

KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur kepada Allah SWT yang senantiasa memberikan petunjuk dan rahmat-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “ *Jelly Drink Cincau Hitam (Mesona Palustris Bl)* Sebagai Minuman Fungsional Antidiare”. Shalawat dan salam semoga senantiasa tercurahkan kepada junjungan kita Nabi Muhammad SAW. Penyusunan skripsi ini dapat terselesaikan berkat motivasi, bimbingan dan bantuan berbagai pihak. Pada kesempatan ini penulis mengucapkan banyak terima kasih kepada:

1. Orangtua tercinta, adik tersayang Ais dan Mbak Farida serta keluarga besar yang selalu memberikan doa dan nasehatnya serta selalu menjadi inspirasi dan semangat selama penyusunan tugas akhir.
2. Ibu Dr. Ir. Tri Dewanti widyaningsih, m. Kes selaku dosen pembimbing yang telah memberikan bimbingan, arahan, ilmu dan pengetahuan serta kesabarannya kepada penulis sehingga terselesaikannya skripsi ini.
3. Dr. Teti Estiasih, STP., Mp. selaku Ketua Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Brawijaya telah membantu memberikan sarana dan prasarana sehingga memudahkan dalam penelitian.
4. Dr. Ir. Elok Zubaidah, MP dan Agustin Krisna Wardani, STP, M.Si Ph.D selaku dosen penguji yang banyak memberikan masukan dan kritikan membangun.
5. Teman-teman THP Angkatan 2010 yang telah berjuang bersama-sama, baik dalam kuliah, tugas, PKL dan sampai skripsi Ini, salam “We Are New Era”
6. Anak – Anak nutrisi 2011 dan Adekku Nela Purwani Septiyanti yang telah bersedia mendengarkan keluhan, memberikan semangat serta kritik membangun sehingga penulis mampu menyelesaikan tugas akhir dengan baik.

Penulis menyadari bahwa masih terdapat ketidaksempurnaan dalam penulisan skripsi ini. Oleh karena itu, segala bentuk kritik dan saran yang membangun sangat diharapkan. Semoga segala yang tersurat dan tersirat dalam skripsi ini dapat memberikan manfaat bagi kita semua.

Malang, Juli 2015

Penulis

I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Diare atau gastroenteritis merupakan salah satu penyakit yang sering dijumpai di masyarakat (Hidayani, 2008). Di dunia, diperkirakan sekitar 2,5 miliar orang mempunyai akses kebersihan yang buruk (WHO, 2009). Setiap tahun, diperkirakan terdapat 2 miliar kasus diare di seluruh dunia. Pada tahun 2004, diare menjadi penyebab kematian tertinggi ketiga di negara berpenghasilan rendah, dengan persentase kematian yaitu 6,9% (WHO^a, 2009). Hasil survey Departemen Kesehatan RI pada tahun 2009 menunjukkan jumlah kasus diare di Indonesia sebanyak 143.696 kasus rawat inap dan 172.013 kasus rawat jalan (WHO^b, 2009).

Pada tahun 2004, lebih dari 1,5 juta anak-anak meninggal akibat diare dan 80% berusia kurang dari 2 tahun (WHO^c, 2009). Kematian akibat diare disebabkan oleh dehidrasi, syok hipopolemik, asidosis, malnutrisi (terutama pada anak-anak). Bersamaan dengan makin tingginya insidensi diare dalam masyarakat, maka banyak dilakukan upaya - upaya pengobatan diare. Sampai sekarang, pengobatan diare baik yang tradisional maupun kimia telah banyak dikembangkan (Hidayati, 2010).

Daun cincau hitam mengandung karbohidrat, polifenol, saponin, flavonoid, dan lemak. Selain itu, daun cincau hitam juga mengandung unsur yang berupa kalsium, fosfor, vitamin A, dan Vitamin B (Widyaningsih, 2010). Cincau hitam banyak dimanfaatkan oleh masyarakat secara tradisional sebagai penurun panas badan, obat sakit perut (mual) dan obat diare (Setijo dalam Yunhara, 2013). Pengobatan penyakit, khususnya diare, dapat dilakukan dengan mengolah cincau hitam menjadi *jelly drink*, bukan hanya kapsul atau tablet yang selama ini telah banyak beredar. Cincau hitam diduga memiliki kandungan fenol yang tinggi, sehingga produk yang diteliti diduga mampu mengatasi penyakit diare.

Proses pembuatan *jelly drink* cincau hitam dibutuhkan karagenan, alginat, dan glukomanan. Karagenan, alginat dan glukomanan dapat digunakan dalam industri pangan karena karakteristiknya yang dapat berbentuk *jelly drink*, bersifat mengentalkan serta menstabilkan material utamanya. Cincau hitam mengandung serat, antioksidan, serta antibakteri sehingga memungkinkan untuk dijadikan obat diare (Whistler dan Miller, 1999). Oleh karena itu, dilakukan pembuktian

fungsional minuman dari cincau hitam sebagai anti diare menggunakan analisa *in vivo* tikus wistar jantan yang diinduksi *Salmonella typhimurium*.

1.2 Rumusan Masalah

Adapun rumusan masalah dalam penelitian adalah sebagai berikut :

1. Bagaimana pengaruh penambahan karagenan, alginat, dan glukomanan terhadap sifat fisik dan kimia?
2. Berapa banyak dosis pemakaian *jelly drink* cincau hitam yang dapat mengobati diare?

1.3 Tujuan

Adapun tujuan dari penelitian adalah sebagai berikut :

1. Mengetahui penambahan proporsi karagenan, alginat, dan glukomanan terhadap sifat fisik dan kimia
2. Mengetahui pemberian dosis *jelly drink* cincau hitam yang dapat mengobati diare

1.4 Manfaat

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi terhadap manfaat minuman fungsional berbahan dasar daun cincau hitam khususnya dalam mengobati diare.

1.5 Hipotesa

Diduga pemberian *jelly drink* cincau hitam dengan proporsi karagenan, alginat dan glukomanan yang tepat, dapat membantu mengatasi diare

II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Cincau Hitam (*Mesona palustris* Bl)

Cincau hitam (*Mesona palustris* Bl.) yang sering dikenal sebagai janggolan merupakan salah satu tanaman yang termasuk dalam suku *Labiata*. Tanaman ini berbentuk perdu tingginya antara 30 – 60 cm dan tumbuh baik di daerah yang mempunyai ketinggian 75 – 2300 m di atas permukaan laut, serta dapat tumbuh baik pada musim kemarau maupun penghujan. Tanaman cincau hitam banyak terdapat di Indonesia, diantaranya Sumatera Utara, Jawa, Bali, Lombok, Sumbawa dan Sulawesi (Widyaningsih^a, 2010).



Gambar 2.1 Daun Cincau Hitam

Ciri-ciri tanaman ini adalah berbatang kecil dan ramping, pada ujung batang tumbuh batang-batang kecil, ada yang tumbuh menjalar ke tanah dan ada pula yang tegak. Tanaman ini memiliki bentuk daun yang lonjong dan berujung runcing. Bentuk bunganya mirip dengan kembang kemangi berwarna merah muda atau putih keunguan. Berasal dari daun dan batang inilah yang kemudian menghasilkan gelatin hijau kehitaman (Supriharso, 1991). Bagian tanaman cincau hitam yang mempunyai kegunaan adalah bagian daun dan bagian batangnya yang dapat menghasilkan ekstrak gel cincau yang lebih banyak (Widyaningsih^b, 2010).

Pembudidayaan tanaman ini sangat mudah karena tidak memerlukan pemeliharaan secara khusus, karena setelah berumur 3 – 4 bulan tanaman bisa dilakukan pemanenan pertama dengan cara memotong sebagian tanaman menggunakan sabit sehingga bagian yang tertinggal dapat tumbuh kembali. Tanaman cincau hitam yang telah dipanen selanjutnya dikeringkan dengan cara menghamparkannya di atas permukaan tanah, sehingga warnanya berubah menjadi coklat tua. Tanaman yang telah kering ini merupakan bahan baku utama

pembuatan cincau hitam atau dapat disebut dengan simplisia cincau hitam (setyorini, 2012).

Cincau hitam mengandung sejumlah mineral dan karbohidrat dalam jumlah lumayan, vitamin A, B1, C, kandungan kalori rendah dan memiliki khasiat menurunkan panas badan, panas dalam, mencegah gangguan pencernaan, menurunkan tekanan darah tinggi dan menurunkan berat badan. Di dalam tubuh, serat larut air dapat mengikat kadar gula dan lemak sehingga bermanfaat untuk mencegah penyakit diabetes mellitus, jantung, serta stroke. Ekstrak cincau hitam memiliki aktivitas antioksidan yang jauh lebih kuat dari vitamin E (Indosiar, 2007)

Farmakologi Cina dan pengobatan tradisional juga mengatakan tanaman cincau bermanfaat untuk anti demam, anti racun, bahkan menurunkan tekanan darah. Manfaat tanaman ini biasanya dari penggunaan rimpang dan daunnya. Bila dicicipi getah dari tanaman ini, rasanya agak manis dan dingin. Khasiat yang terkandung didalam janggolan berasal dari unsur kimia yang ada di dalamnya (Ruhnayat, 2002).

Cincau hitam bermanfaat untuk kesehatan, khasiat tersebut terkait erat dengan kandungan serat larut air (*soluble dietary fiber*) yang terdapat di dalamnya. Di dalam tubuh, serat larut air dapat mengikat kadar gula dan lemak/kolesterol, sehingga bermanfaat untuk mencegah penyakit diabetes mellitus, jantung, stroke, dan penyakit kardiovaskular lainnya. Komponen aktif polifenol yang terdapat pada cincau hitam mampu mencegah kerusakan DNA pada limfosit manusia yang terpapar radikal bebas berupa hidrogen peroksida dan iridiasi sinar UV. Ekstrak cincau hitam memiliki aktivitas antioksidan yang kuat akibat adanya senyawa-senyawa fenol (Ardyan, 2007).

2.2 Bahan tambahan dalam Jelly Drink Cincau Hitam

2.2.1 Pandan Wangi

Tanaman pandan wangi (*Pandanus amaryllifolius*) termasuk family *Pandan-aceae*, genus *Pandanus*. Pandan wangi tumbuh di daerah tropis dan merupakan tanaman perdu tahunan dengan tinggi 1 – 2 m. Khasiat tanaman ini adalah sebagai rempah-rempah, bahan penyedap, pewangi dan pemberi warna hijau pada masakan dan bahan baku pembuatan minyak wangi. Selain itu pandan juga digunakan sebagai obat tradisional untuk mencegah rambut rontok, menghitamkan rambut, menghilangkan ketombe, mengobati lemah saraf

(neurastenia), tidak nafsu makan, rematik, sakit disertai gelisah. Daun pandan mempunyai kandungan kimia antara lain alkaloida, saponin, flavonoida, tanin, polifenol, dan zat warna. Pandan wangi merupakan salah satu tanaman yang potensial untuk menghasilkan minyak atsiri (Rohmawati, 1995).



Gambar 2.2 Daun Pandan Wangi

Pandan wangi banyak digunakan sebagai pemberi cita rasa dan zat pewarna pada makanan dan minuman tradisional. Komponen penyusun aroma pandan wangi berwarna kuning sebagai hasil oksidasi pigmen karotenoid (Buttery, 1983). Masyarakat India menggunakan ekstrak daunnya sebagai perasa makanan sementara ekstrak akarnya digunakan untuk menyembuhkan masalah tiroid. Sehingga, orang Taiwan selalu menggunakan tanaman ini untuk menghilangkan demam. Terlebih itu, *Geneva-based International Standards Organization* (ISO) telah memasukkan spesies *P. amaryllifolius* dalam daftar spesies 109 tanaman herbal dan bumbu yang berguna sebagai bahan makanan (Asmain, 2010).

Pandan merupakan salah satu tumbuhan dari family *Pandanceae* beranggotakan tanaman-tanaman yang umum dikenal sebagai pandan / *screw pines* penelitian sebelumnya mengungkapkan bahwa *2-acetyl-1pyrroline* (2-AP) komponen terbesar yang terdapat pada daun pandan, sementara kandungan lain yang dimilikinya adalah komponen minyak volatil, alkohol, senyawa aldehid aromatik, keton dan ester juga ditemukan. Penelitian yang dilakukan oleh (Fatihanim M.N., *et al.* 2008) menunjukkan bahwa ekstrak daun pandan dapat berperan sebagai antioksidan alami. Penelitian tersebut mengindikasikan bahwa ekstrak daun pandan memiliki kandungan polifenol dan mampu berperan sebagai antioksidan yang *heat-stable* (tahan panas) sehingga berpotensi sebagai alternatif antioksidan alami untuk mengganti antioksidan sintetis di industri pangan.

Daun pandan di Asia Tenggara telah digunakan secara luas untuk memberi rasa pada makanan contohnya nasi dan kue-kue. Ekstraknya digunakan sebagai perasa pada industri kue dan seluruh bagian daunnya digunakan untuk membuat nasi lemak di Malaysia dan nasi kuning di Indonesia. Masyarakat di negara India dan Filipina menggunakan daun pandan secara tradisional untuk memasak nasi non-aromatik untuk menguatkan aromanya. Terlebih lagi spesies ini juga digunakan sebagai obat tradisional untuk meredakan sakit gigi, rematik, diuretik, *anti-inflamasi* dan menurunkan kadar gula dalam tubuh atau efek hipoglikemik (Asmain^a. 2010).

2.2.2 Kayu Manis

Kayu manis merupakan tumbuhan asli Asia Selatan, Asia Tenggara dan daratan Cina, Indonesia termasuk di dalamnya. Tumbuhan ini termasuk famili *Lauraceae* yang memiliki nilai ekonomi dan merupakan tanaman tahunan yang memerlukan waktu lama untuk diambil hasilnya. Hasil utama kayu manis adalah kulit batang dan dahan.



Gambar 2.3 Kayu Manis

Kayu manis mengandung minyak atsiri, eugenol, *safole*, sinamaldehyd, tanin, kalsium oksalat, damar dan zat penyamak, dimana sinamaldehyd merupakan komponen yang terbesar yaitu sekitar 70 % (Thomas, 2001). Ekstrak kulit batang kayu manis dengan kandungan kadar trans-sinamaldehyd yang cukup tinggi (68.65 %) menjadi sumber senyawa antioksidan dengan kemampuannya menangkap radikal bebas atau *radical scavenger*. Penelitian tersebut menunjukkan bahwa minyak atsiri dan oleoresin kayu manis jenis *C. burmannii* mempunyai aktivitas antioksidan (Ekaprasada M. T., 2009).

Kayu manis mengandung protein, karbohidrat, vitamin (A, C, K, B3), mineral seperti kalsium, zat besi, magnesium, mangan, fosfor, sodium, zinc dan kolin. Dengan mengkonsumsi kayu manis dapat memberi jumlah kolin yang cukup besar. Zat gizi ini dapat membantu otak mensintesa asetilkolin, senyawa yang digunakan untuk komunikasi sel syaraf. Kolin juga dapat membantu tubuh

memetabolisme lemak, menjaga kondisi membran sel yang baik dan untuk berlangsungnya beberapa reaksi kimia di dalam sel. Mengonsumsi 1 sdm kayu manis dapat memenuhi kebutuhan kolin sebanyak 0.90 mg (Meena V. 2012).

Minyak atsiri kayu manis sangat efektif dalam menghambat pertumbuhan beberapa bakteri antara lain *B. cereus*, *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa* dan *Klebsiella sp.* Penghambatan bakteri dengan minyak atsiri kayu manis disebabkan oleh senyawa aktif seperti sinamaldehyd dan asam sinamat. Penelitian tersebut memperlihatkan bahwa minyak atsiri dan oleoresin kayu manis mempunyai efek antibakteri pula (Gupta, 2008).

2.2.3 Karagenan

Karagenan merupakan senyawa yang termasuk kelompok polisakarida galaktosa hasil ekstraksi dari rumput laut. Sebagian besar karagenan mengandung natrium, magnesium, dan kalsium yang dapat terikat pada gugus ester sulfat dari galaktosa dan kopolimer 3,6-anhydro-galaktosa. Karagenan dapat diekstraksi dari protein dan lignin rumput laut dan dapat digunakan dalam industri pangan karena karakteristiknya yang dapat berbentuk *jelly*, bersifat mengentalkan, dan menstabilkan material utamanya. Menurut (Whistler and Miller 1999) menyebutkan apabila dilihat dari nilai gizinya, karagenan tidak mempunyai nilai gizi yang berarti, karena strukturnya berupa polisakarida kompleks dan susah dicerna. Dan kandungan kalornya sangat rendah bahkan mencapai nol. Dari sifat karagenan yang paling penting adalah mampu mengubah cairan menjadi padatan atau mengubah sol menjadi gel yang bersifat *reversible*. Kemampuan inilah yang menyebabkan tepung karagenan sangat luas penggunaannya (wenno, 2009).

2.2.4 Alginat

Alginat dalam pemanfaatannya berupa garam alginat dan garam ini larut dalam air. (Reen, kartini 2001). Alginat dalam pasarannya sebagian besar berupa natrium alginat, yaitu suatu garam alginat yang larut dalam air. Jenis alginat lain yang larut dalam air ialah kalium atau ammonium alginat. Sedangkan, alginat yang tidak larut dalam air adalah kalsium alginat dan asam alginat dan derivat atau produk turunan yang terpenting adalah *propylene glycol alginat*. Alginat yang memiliki mutu *food grade*, harus bebas dari selulosa dan warnanya sudah dipucatkan (*bleached*) sehingga terang atau putih, *Pharmaceutical grade*, biasanya juga bebas dari selulosa. Disamping *grade* tersebut, ada lagi yang

disebut *industrial grade* yang biasanya masih mengizinkan adanya beberapa bagian dari selulosa, dengan warna dari coklat sampai putih.

Sifat fungsional alginat alami sering mempunyai kelemahan seperti kelarutan yang rendah, stabilitas larutan yang tidak stabil, pembentukan gel yang tidak diinginkan pada produk – produk yang viskos (dragger *et, al* dalam anon 2008).

2.2.5 Glukomannan

Glukomannan adalah serat pangan larut air yang bersifat hidrokoloid kuat dan rendah kalori serta merupakan salah satu komponen kimia terpenting yang terdapat dalam umbi porang. Menurut Ohtsuki (1968), jika irisan umbi porang diamati di bawah mikroskop akan terlihat sebagian besar umbi tersusun oleh sel-sel glukomannan. Sel-sel glukomannan berukuran 0.5-2 mm, lebih besar 10-20 kali dari sel pati. Satu sel glukomannan terdiri dari satu butir glukomannan.

Glukomannan mempunyai sifat-sifat antara selulosa dan galaktomannan, yaitu dapat mengkristal dan dapat membentuk struktur serat-serat ringan. Keadaan ini mengakibatkan glukomannan mempunyai manfaat yang lebih luas dari pada selulosa dan galaktomannan (Ohtsuki, 1968 dalam Syaefullah, 1990). Larutan glukomannan dalam air mempunyai sifat merekat, tetapi bila ditambahkan asam asetat atau asam pada umumnya, maka sifat merekat tersebut akan hilang sama sekali. Larutan glukomannan dapat diendapkan dengan cara rekristalisasi oleh etanol dan kristal yang terbentuk dapat dilarutkan kembali dengan asam klorida encer. Bentuk kristal yang terjadi sama dengan bentuk kristal glukomannan di dalam umbi. Bila glukomannan dicampur dengan larutan alkali (khususnya Na, K, dan Ca), akan segera terbentuk kristal baru atau membentuk massa gel. Kristal baru tersebut tidak dapat larut dalam air (walaupun sampai suhu 100°C) ataupun larutan asam encer. Demikian juga dengan timbal II asetat (cupriethylenediamin), larutan glukomannan akan membentuk endapan putih yang stabil (Ohtsuki, 1968 dalam Syaefullah, 1990).

2.3 Pangan Fungsional

Pangan fungsional adalah pangan yang berdasarkan pengetahuan antara pangan atau komponen pangan dan kesehatan, diharapkan memiliki keuntungan dalam kesehatan dan telah dinyatakan bahwa orang yang menggunakan produk tersebut akan memperoleh kesehatan (Fardiaz, 2003). Menurut *The International Food Information Council* (IFIC), pangan fungsional adalah pangan

yang memberikan manfaat kesehatan diluar zat – zat gizi dasar (IFIC Foundation, 1998).

Ilmuwan Jepang menekankan pada 3 fungsi dasar pangan fungsional yaitu sensori (warna, penampilan menarik dan citarasa), nutritional (bergizi tinggi) dan fisioligal (memberi pengaruh fisiologis bagi tubuh). beberapa fungsi fisiologis yang diharapkan antara lain pencegah dari timbulnya penyakit, meningkatkan daya tahan tubuh, regulasi kondisi ritme fisik tubuh, memperlambat proses penuaan dan penyehatan kembali (*recovery*).

2.4 Jelly Drink

Jelly merupakan produk minuman semi padat yang terbuat dari sari atau ekstrak buah-buahan yang dimasak dalam gula. Gula di dalam *jelly* berfungsi untuk menurunkan tekanan osmotik, sehingga bakteri tidak dapat tumbuh dan produk ini dapat disimpan dalam waktu yang lebih lama, disamping itu juga berfungsi sebagai pengendap pektin. Menurut Widyaningsih (2010) syarat *jelly* yang baik adalah transparan, mempunyai aroma serta rasa buah asli. Sedangkan menurut Triyani (2006) tekstur yang diinginkan pada minuman *jelly* adalah mantap, saat dikonsumsi menggunakan bantuan sedotan mudah hancur, namun bentuk gelnya masih terasa dimulut.

Glicksman (1993) menyatakan bahwa *jelly* merupakan produk hasil gelatinisasi dari campuran hidrokoloid dan gula dalam air dengan karakteristik gel yang bersifat elastis dan tidak mengandung butiran-butiran halus didalamnya. Sifat fisik penting yang berkaitan dengan mutu produk ini adalah kekentalan (viskositas), kelekatan, elastisitas, plasitisitas, kelenturan, kekenyalan (kekuatan gel) dan sejenisnya (Soekarto, 1995).

2.5 Diare

Diare adalah buang air besar dengan frekuensi yang tidak normal (meningkat) dan konsistensi tinja yang lebih lembek atau cair. Diare selalu dikaitkan dengan *gastroenteritis* (radang lambung-usus) karena umumnya diare muncul sebagai akibat adanya gangguan pada saluran gastro intestinal (Sriyanto, 2004). Dalam definisi lain diare adalah keadaan buang air dengan banyak cairan (mencret) dan merupakan gejala dari penyakit-penyakit tertentu atau gejala-gejala lainnya (Tan^a, 2002). Secara fisiologi, dalam lambung makanan dicerna menjadi bubur (*chymus*), kemudian diteruskan ke usus halus untuk diuraikan lebih lanjut oleh enzim-enzim.

Setelah terjadi absorpsi, sisa *chymus* tersebut yang terdiri dari 90% air dan sisa-sisa makanan yang sukar dicernakan, diteruskan ke usus besar (*colon*). Bakteri-bakteri selanjutnya mencernakan lagi sisa-sisa makanan tersebut, sehingga sebagian besar dapat diserap pula selama perjalanan melalui usus besar. Airnya direabsorpsi kembali, sehingga lama kelamaan isi usus menjadi lebih padat (Tan^b, 2002).

2.5.1 Klasifikasi diare

Berdasarkan klasifikasinya, diare dibagi kedalam tiga kelompok yaitu :

a. Berdasarkan adanya infeksi, dibagi atas :

1. Diare infeksi enteral, yaitu diare karena infeksi di usus misalnya infeksi bakteri (*Vibrio cholera*, *Eschericia coli*, *Salmonella* dan *Shigella*), infeksi virus (*Rotavirus* dan *Enterovirus*) dan infeksi parasit (cacing, protozoa, dan jamur).
2. Diare infeksi parenteral, yaitu diare karena infeksi di luar usus misalnya infeksi saluran pernapasan.

b. Berdasarkan lamanya diare, dibagi atas yaitu:

1. Diare akut, yaitu diare yang terjadi secara mendadak yang segera berangsur sembuh pada seseorang yang sebelumnya sehat. Diare akut biasanya berlangsung dalam waktu kurang dari 2 minggu.
2. Diare kronis, yaitu diare yang timbul perlahan-lahan berlangsung 2 minggu atau lebih, baik menetap atau bertambah hebat (Sriyanto, 2004).

c. Berdasarkan penyebab terjadinya diare, dibagi atas:

1. Diare spesifik, yaitu diare yang disebabkan oleh adanya infeksi misalnya infeksi yang disebabkan oleh virus, bakteri, parasit dan enterotoksin.
2. Diare non spesifik, yaitu diare yang tidak disebabkan oleh adanya infeksi misalnya alergi makanan atau minuman (*intoleransi*), gangguan gizi, kekurangan enzim dan efek samping obat (Tan^c, 2002).

2.5.3 Pengobatan Diare

Pengobatan diare dapat dibagi kedalam dua kelompok, yaitu :

- a. pengobatan spesifik, dilakukan dengan memberikan obat-obat kemoterapeutik setelah diketahui penyebab yang pasti melalui pemeriksaan laboratorium. Diberikan pada keadaan infeksi.
- b. pengobatan non spesifik, dilakukan dengan mengurangi peristaltik otot polos usus, menciutkan selaput lendir usus (*astringensia*), menyerap racun dan

toksin (*adsorbensia*) dan memberikan cairan elektrolit.

2.6 *Salmonella typhimurium*

Salmonella enterica serovar *Typhimurium* merupakan serovar *Salmonella* yang menyebabkan infeksi Salmonellosis terbanyak di Amerika Serikat. Pada manusia, Salmonellosis menyebabkan diare, demam, dan nyeri abdominal 12-72 jam setelah infeksi dan dapat berlangsung hingga 7 hari. Beberapa kasus memerlukan perawatan di rumah sakit. *Salmonella* ditransmisikan melalui feses manusia atau binatang. Insidensi Salmonellosis non-tifoid (yang disebabkan *Salmonella enterica*) meningkat secara tajam di berbagai belahan di dunia, menyebabkan peningkatan jumlah infeksi dan kematian pada manusia tiap tahunnya (Khasanah, 2009).

Salmonella typhimurium merupakan bakteri gram *negative* yang pathogen, predominan ditemukan pada lumen usus. Toksisitasnya berhubungan dengan membran permukaan yang mengandung lipopolisakarida (LPS), yang berfungsi juga melindungi bakteri dari lingkungan sekitarnya. LPS tersusun atas antigen-O, inti polisakarida, dan lipid A, yang menghubungkannya dengan membran tertular. Lipid A tersusun dari dua phosphorylated glucosamines yang terikat dengan asam lemak. Grup fosfat ini menentukan toksisitas bakteri. Beberapa binatang mengeluarkan enzim yang memecah grup fosfat ini sebagai bentuk pertahanan dari patogenitas bakteri tersebut. Antigen-O, yang berada pada bagian paling luar dari kompleks LPS, bertanggung jawab dalam respon imun penjamu. *S. typhimurium* memiliki kemampuan mengendalikan antigen-O, yang berpengaruh pada perubahan konformasinya, sehingga antibodi lebih sulit mengenali (Khasanah, 2009).

Salmonella typhimurium menginfeksi dengan cara masuk secara langsung ke dalam sel nonfagosit. Kontak ini menginduksi terjadinya formasi pada permukaan sel bakteri berupa appendages. Appendages ini lebih pendek dibandingkan *flagella* namun lebih tebal dibandingkan *flagella* maupun pili. Kesemuanya menyebabkan pembentukan sitoskeleton penjamu sehingga bakteri dapat memasuki sel. Sistem membran ini berhubungan dengan 14 gen pada kromosom *S. typhimurium*. Gen *Inv* bertanggung jawab dalam pembentukan dan emisi appendages. Gen *Inv* harus mengalami kontak dengan system ini untuk bekerja. *InvC*, salah satu jenis gen ini bertanggung jawab pada ATPase yang menyediakan kebutuhan energi untuk melengkapi proses ini (Khasanah, 2009)

Salmonella typhimurium menyebabkan gastroenteritis pada manusia dan mamalia lain. Ketika sel bakteri memasuki epitel usus, menyebabkan kerusakan mikrovili pada permukaan sel. Hal ini menyebabkan kenaikan jumlah sel darah putih ke mukosa, sehingga mengacaukan absorpsi dan sekresi, suatu proses yang mengarah pada diare. Pada mencit, *S.typhimurium* menyebabkan gejala yang sama dengan demam tifoid pada manusia (Khasanah, 2009)

2.7 Kontrol jelly drink (Loperamid Hidrokloridum)

Loperamid Hyddochloridum atau *loperamid hidroklorida* (4-(p-klorofenil)-4-hidroksi-N, N-dimetil- α , α -difenil-1 piperidina butiramida monohidroklorida) mempunyai rumus kimia $C_{29}H_{33}ClN_2O_2$. HCL dan berat molekul 513,51. Pemberian berupa serbuk putih sampai agak kuning, melebur pada suhu lebih kurang 225° disertai peruraian. Mudah larut dalam methanol, dalam isopropyl alcohol dan dalam kloroform, sukar larut dalam air dan asam encer (Anonime, 2009; Dit Jen POM, 1995).

Derivate difenoksilat dengan khasiat obstipasi yang 2-3 kali lebih kuat tetapi tanpa khasiat terhadap susunan saraf pusat, sehingga tidak mengakibatkan ketergantungan. Lagi pula zat ini mampu menormalkan kembali keseimbangan absorpsi dan sekresi dari sel-sel mukosa, yaitu memulihkan sel-sel yang berada dalam keadaan hipersekresi ke keadaan absorpsi normal. Mulai kerjanya lebih cepat, juga bertahan lebih lama. Efek samping berupa rasa mengantuk, pusing, dan mulut kering. Efek samping sangat jarang terjadi (Tan,2002). Loperamid tersedia dalam bentuk tablet 2mg (Imodium) dan sirup 1mg/5ml dan digunakan dengan dosis 4mg perhari (Sarjono,1995).

2.8 Pengujian Secara *In vivo*

Hewan coba biasanya digunakan dalam pengujian secara biologis untuk membantu menjalankan penelitian yang tidak bisa secara langsung dilakukan dalam tubuh manusia dengan asumsi semua jaringan, sel – sel penyusun tubuh serta enzim – enzim yang ada dalam tubuh hewan coba memiliki kesamaan dengan manusia (Arrington 1972 dalam Wulandari, 2010).

Metode *in vivo* adalah metode evaluasi nilai biologis pangan yang sensitive dan dapat memberikan informasi akurat mengenai manfaat dan keamanan pangan karena dilakukan dengan organisme hidup secara utuh. Prinsip dari metode *in vivo* adalah melakukan pemberian makanan pada hewan atau manusia untuk melihat manfaat suatu bahan pangan terhadap tubuh

(Zakaria dkk, 2007). Menurut Walfensohn dan Lylod (1998) dalam Wulandari (2010), *in vivo* merupakan uji biologi yang menggunakan hewan percobaan dan hewan yang banyak dipergunakan adalah tikus, mencit, hamster, marmot, kucing, anjing, babi, primate (kera) dan kambing.

Hewan coba yang banyak digunakan adalah mencit dan tikus putih. Alasan menggunakan kedua hewa coba tersebut karena mudah diperoleh dalam jumlah banyak, mempunyai respon cepat, memberikan gambaran secara ilmiah yang mungkin terjadi pada manusia dan harganya relatif murah (Sihombing dan Raflizar, 2010). Selain itu, kedua jenis ini bersifat omnivora (pemakan segala) dan mempunyai jaringan yang hampir sama dengan manusia serta kebutuhan gizi yang serupa dengan manusia (Wolfensohn dan Lylod 1998 dalam Wulandari 2010).

Menurut Griffith dan Farris (1971) dalam Wulandari (2010), keunggulan tikus pada spesies (strain) tertentu seperti Sparague Dawley dan Wistar telah teruji secara klinis pada laboratorium dan persilangan (breeding) diantaranya terkontrol secara turun menurun, memiliki biaya perawatan yang minimal, penempatan pemeliharaan kecil, omnivora, umur atau generasi tikus pendek.

Berikut ini merupakan data biologi dan gambaran hematologi tikus :

Tabel 2.1. Data Biologi Tikus

Data Biologi	Jumlah
Konsumsi pakan per hari	5 g/100 g bb
Konsumsi air minum per hari	8 – 11 ml/100 g bb
Bobot badan dewasa	
- Jantan	300 – 400 g
- Betina	250 – 300 g
Mulai makan pakan kering	12 hari
Jumlah kromosom	42
Suhu rektal	37,5 °C
Laju respirasi	85 x/mn
Pengambilan darah maksimum	5,5 ml/kg

Sumber : Prameswari (2013)

III METODE PENELITIAN

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian tentang cincau hitam dilaksanakan di Laboratorium Biokimia dan Analisis Pangan Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, laboratorium teknologi pengolahan pangan, laboratorium bioteknologi pangan dan laboratorium nutrisi pangan, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Brawijaya Malang. Penelitian ini dilaksanakan mulai bulan maret 2014 sampai mei 2014.

3.2 Bahan dan Alat Penelitian

3.2.1 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah cincau hitam yang diperoleh dari kota Magetan. Bahan lain yang digunakan adalah daun pandan dan kayu manis yang diperoleh di pasaran. Bahan yang digunakan untuk analisa aktivitas antioksidan yaitu DPPH 0,2 M yang diperoleh dari Laboratorium Biokimia dan Analisis Pangan Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Brawijaya Malang.

Bahan dalam uji *in vivo* terdiri dari tikus wistar jantan umur 2 – 3 bulan dengan berat \pm 150 - 180 gr, pakan susu PAP yang didapatkan dari pasar hewan *Seplendid* Malang, bakteri indikator *Salmonella tyhpimurium*, aquades, etanol 96%, alginat, glukomanan, karagenan, karboksi metal selulosa (CMC), *Loperamid* HCl dan toluene.

3.2.2 Alat Penelitian

Alat yang digunakan dalam proses pembuatan *jelly drink* cincau hitam meliputi panci perebusan, pengaduk kayu, serta kain saring. Peralatan yang digunakan untuk analisa tablet yaitu alat-alat glass laboratorium gelas ukur “pyrex”, erlemeyer “pyrex”, bola hisap “vitlab”, pipet volume “pyrex”, spatula, desikator, kertas saring, oven listrik, alumunium foil, mortar, alat perkulator dan timbangan analitik “Denver instrument”. Peralatan yang digunakan untuk uji antidiare yaitu kertas saring, jarum suntik skala 1 ml (*One Med*) dan jarum sonde mencit. Alat yang digunakan untuk pemeliharaan tikus adalah bak plastik berukuran 45 cm x 35,5 cm x 14,5 cm, kandang tikus dari kawat berukuran 36,5 cm x 28 cm x 15,5 cm, botol air, sekam, tempat makan tikus dan alat sonde.

3.3 Metodologi Penelitian

Dalam penelitian ini menggunakan dua tahap penelitian. Tahap I adalah pembuatan jelly drink cincau hitam. Tahap II adalah anti diare pada tikus secara in vivo.

3.3.1 Metode Penelitian Tahap I

Tahap I adalah pembuatan jelly drink, menggunakan metode Rancangan Acak Kelompok (RAK) dengan dua faktor.

Faktor I : Proporsi bahan karagenan, alginat, glukomanan

- a. F1 = karagenan : alginat : glukomanan 1 : 0 : 0
- b. F2 = karagenan : alginat : glukomanan 1 : 1 : 0
- c. F3 = karagenan : alginat : glukomanan 1 : 0 : 1

Faktor II : komposisi *gelling agent*

- a. K1 = komposisi 0,5 %
- b. K2 = komposisi 0,75 %
- c. K3 = komposisi 1 %

Sehingga akan didapatkan 9 kombinasi percobaan yaitu sebagai berikut.

	K1	K2	K3
F1	F1K1	F1K2	F1K3
F2	F2K1	F2K2	F2K3
F3	F3K1	F3K2	F3K3

Keterangan :

F1K1 = karagenan : alginat : glukomanan 1 : 0 : 0, komposisi 0,5 %
F1K2 = karagenan : alginat : glukomanan 1 : 0 : 0, komposisi 0,75 %
F1K3 = karagenan : alginat : glukomanan 1 : 0 : 0, komposisi 1 %
F2K1 = karagenan : alginat : glukomanan 1 : 1 : 0, komposisi 0,5 %
F2K2 = karagenan : alginat : glukomanan 1 : 1 : 0, komposisi 0,75 %
F2K3 = karagenan : alginat : glukomanan 1 : 1 : 0, komposisi 1 %
F3K1 = karagenan : alginat : glukomanan 1 : 0 : 1, komposisi 0,5 %
F3K2 = karagenan : alginat : glukomanan 1 : 0 : 1, komposisi 0,75 %
F3K3 = karagenan : alginat : glukomanan 1 : 0 : 1, komposisi 1 %

Jumlah perulangan sampel ditentukan berdasarkan rumus Federer, dengan 5 perlakuan di dapatkan ulangan sebesar :

$$T(n-1) \geq 15$$

$$9(n-1) \geq 15$$

$$9n-9 \geq 15$$

$$n = 2,67 = 3$$

keterangan T = jumlah perlakuan

n = jumlah ulangan

Jumlah ulangan yang dilakukan dalam penelitian ini adalah sebanyak 3 kali ulangan, sehingga didapatkan perlakuan sampel sebanyak 27 perlakuan. Masing – masing bahan diekstrak dengan menggunakan metode ekstraksi infusa, kemudian hasil ekstraksi dari masing – masing bahan dicampurkan sesuai formulasi yang ditentukan. Tiap perlakuan dilakukan analisa kimia untuk mengetahui kandungan antioksidan terbaik dari formulasi jelly drink.

3.3.2 Metode Penelitian Tahap II

Setelah didapatkan formulasi dengan aktivitas antioksidan terbaik, kemudian dilakukan uji klinis *in vivo* pengaruh konsumsi jelly drink terhadap anti diare pada tikus wistar jantan.

Desain penelitian yang akan digunakan adalah **True Experimental Design: Post Test Only Control Group Design**. Sedangkan pemilihan objek penelitian untuk pengelompokan dan pemberian perlakuan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 5 kelompok perlakuan, antara lain :

D0 = kontrol negatif dengan pemberian pakan standar susu PAP + akuades

D1 = kontrol positif dengan pemberian pakan standar susu PAP

D2 = perlakuan positif jelly drink 60mg/200g BB/hari

D3 = perlakuan positif jelly drink 80mg/200g BB/hari

D4 = perlakuan positif jelly drink 120mg/200g BB/hari

D5 = perlakuan positif dengan pemberian 0,2 ml loperamid

3.3.3 Populasi dan Sampel Percobaan

Subyek dalam penelitian ini adalah tikus putih **Rattus norvegicus** strain Wistar dengan jenis kelamin jantan berumur sekitar 3 – 4 bulan dengan berat \pm 200 gram. Estimasi banyaknya tikus yang digunakan dalam penelitian, berdasarkan kelompok perlakuan yang akan diberikan. Jika terdapat 4 kelompok perlakuan , maka jumlah tikus untuk masing – masing perlakuan dapat dihitung sebagai berikut.

Rumus : $p (n - 1) \geq 15$

$6(n-1) \geq 15$

$6n - 6 \geq 15$

$n = 3$

Maka jumlah tikus yang digunakan dalam penelitian dengan 4 kelompok perlakuan pada masing – masing perlakuan adalah 3 ekor. Sehingga jumlah tikus yang digunakan adalah sebanyak 18 ekor.

3.4 Dosis *Jelly Drink* Cincau Hitam

Dosis minuman jelly drink cincau hitam yang diberikan pada tikus, Menurut penelitian Enda (2010) yaitu :

Dosis 1 = 60 mg / 200 g

Dosis 2 = 80 mg / 200 g

Dosis 3 = 120 mg / 200 g

3.5 Pelaksanaan Penelitian

Pelaksanaan penelitian dilakukan dengan tiga tahap, yaitu :

Tahap 1 pembuatan *jelly drink* cincau hitam

Simplisia cincau hitam dicuci dan ditiriskan Simplisia ditimbang 100 g dan dilakukan pengecilan ukuran dengan cara dipotong-potong. Simplisia yang sudah dipotong kemudian dihancurkan hingga diperoleh serbuk cincau hitam. Serbuk cincau hitam ditambah air sesuai dengan proporsi 1: 22 dan dipanaskan pada suhu 70°C selama 20 menit dengan ditambah daun pandan 10% (b/b) dan kayu manis 0,5% (b/b). Serbuk cincau hitam yang telah dipanaskan lalu disaring dengan kain saring sebanyak tiga kali sehingga diperoleh filtrat cincau hitam. Filtrate cincau hitam ditambahkan gula 13% (b/v), karragenan 0,5% (b/v), alginat 0,5% (b/v) dan dipanaskan pada suhu 70°C selama 15 menit dengan diaduk. *Jelly drink* yang dihasilkan dimasukkan dalam kemasan cup.

Tahap 2 Tahap *In vivo* (Modifikasi Oky, 2013).

1. Masa Adaptasi

Berat badan semua tikus ditimbang pada awal percobaan. 18 ekor tikus wistar jantan diadaptasi dengan lingkungan penelitian selama 7 hari dan dikelompokkan menjadi 6 kelompok acak yang masing – masing terdiri dari 3 ekor tikus. Tikus diberikan pakan standar susu PAP dengan jumlah yang sama yaitu 15 gram/tikus/hari. Berat badan tikus ditimbang pada akhir masa adaptasi sehingga berat badan tikus dapat dipantau dan dapat dipastikan tikus dalam kondisi baik.

2. Tahap Perlakuan atau Treatment

Satu kelompok tanpa induksi *Salmonella typhimurium* dan 5 kelompok lainnya diinduksi *Salmonella typhimurium* 2,5 ml/kgBB. Masing-masing kelompok terdiri atas 3 tikus. Kelompok perlakuan 1 (D0), tanpa di induksi *Salmonella typhimurium* dan pemberian pakan standar susu PAP sebagai kontrol normal negatif. Kelompok perlakuan 2 (D1), pemberian pakan standar susu PAP + diinduksi *Salmonella typhimurium* 2,5 ml/kgBB dan tanpa pemberian *jelly drink* (kontrol positif *Salmonella typhimurium*). Kelompok perlakuan 3 (D2), pemberian pakan standar susu PAP + di induksi *Salmonella typhimurium* 2,5 ml/kgBB + *jelly drink* dosis 1 (60mg/200g tikus/hari). Kelompok perlakuan 4 (D3), pemberian pakan standar susu PAP + di induksi *Salmonella typhimurium* 2,5 ml/kgBB + *jelly drink* dosis 2 (80mg/200g tikus/hari). Kelompok perlakuan 5 (D4), pemberian pakan standar susu PAP + di induksi *Salmonella typhimurium* 2,5 ml/kgBB + *jelly drink* dosis 3 (120mg/200g tikus/hari). Kelompok perlakuan 6 (D5), pemberian pakan standar susu PAP + di induksi *Salmonella typhimurium* 2,5 ml/kgBB + loperamid HCl 0,2 ml.

Tahap 3. Pengamatan Feses

Pengamatan dilakukan untuk mengetahui perubahan-perubahan yang terjadi pada feses tikus yang mengalami diare akibat diinduksi *Salmonella typhimurium*. Selanjutnya diberi konsumsi *jelly drink* cincau hitam dan obat loperamid. Pengamatan feses dilakukan dengan cara menempatkan kertas saring sebagai pijakan dari tikus untuk mengetahui hasil resapan dari feses tikus. Hasil dari feses tersebut di ukur lebar resapannya dan bentuk dari feses. Hasil dari feses di bandingkan dengan sebelum diinduksi perlakuan dan sudah diinduksi perlakuan.

3.6 Pembuatan Suspensi Loperamid Hidrokloridum

Tablet Imodium dihaluskan dan diambil sebanyak 0,182 mg kemudian serbuk ditambahkan suspensi CMC 1% sedikit demi sedikit sambil digerus homogen lalu diencerkan dengan CMC 1%. Volume sediaan yang dibutuhkan 0,20 ml x 6 ekor x 12 kali pemberian = 14,4 ml ~ 15 ml.

3.7 Pengujian Efek Antidiare

Dosis *jelly drink* cincau hitam ditentukan berdasarkan orientasi pada hewan percobaan terhadap parameternya. Parameter yang diamati yaitu

konsistensi feses, frekuensi diare dan lama terjadinya diare. Dosis yang digunakan yaitu dosis 60, 80 dan 120 mg/kg bb. Hasil orientasi dipilih variasi dosis sebanyak tiga dosis. Dosis I 60 mg/kg bb, dosis II 80 mg/kg bb dan dosis III 120 mg/kg bb. Sebagai pembanding suspensi Loperamid HCl dosis 0,2 ml/kg bb. Urutan penelitian sebagai berikut:

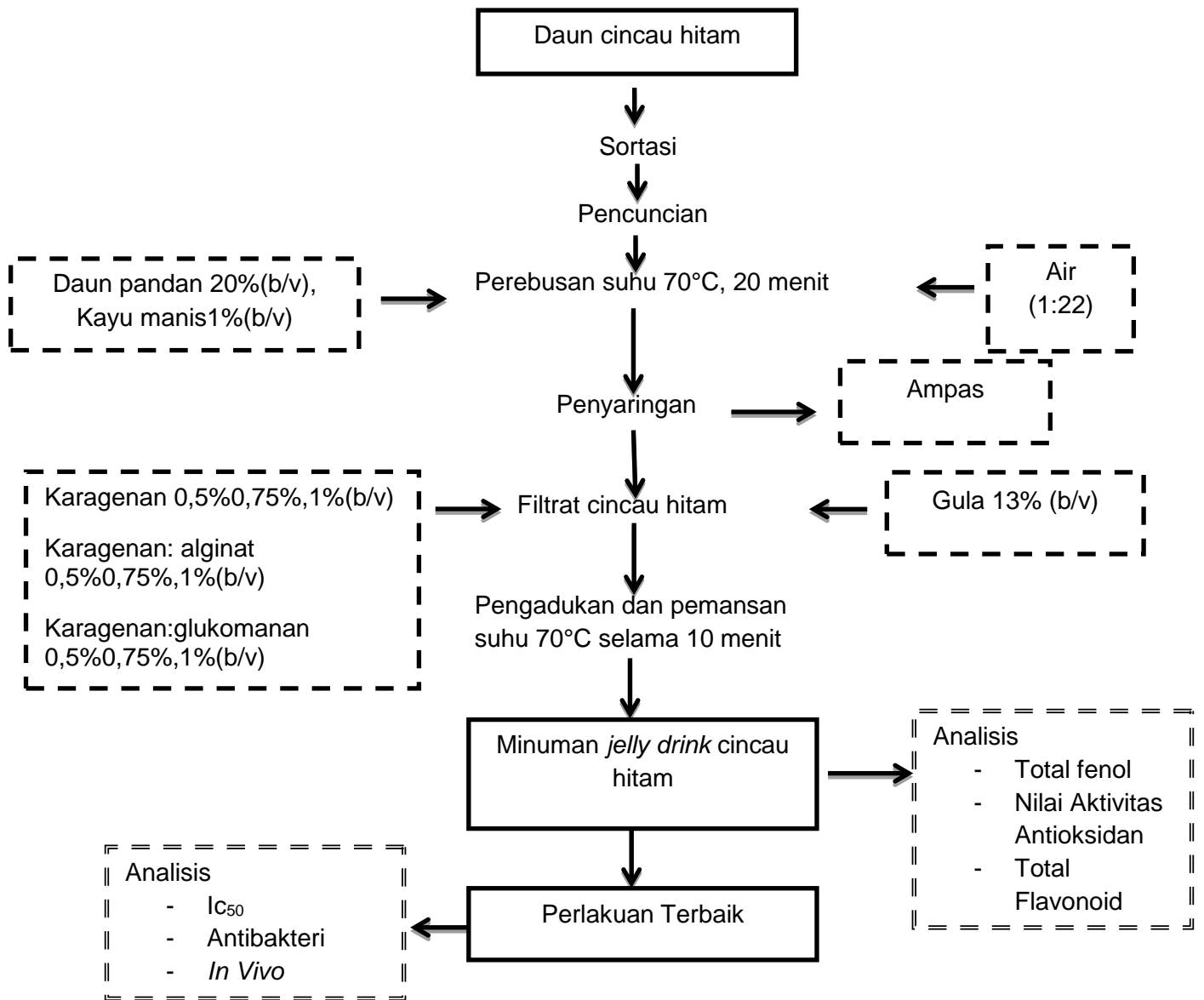
- a. Tikus diadaptasikan dengan lingkungan penelitian selama satu minggu.
- b. Tiga puluh menit sebelum penelitian, tikus dipuasakan, selanjutnya dikelompokkan menjadi 6 kelompok masing-masing 3 ekor.
- c. Semua semua tikus kecuali kontrol negatif diberikan *salmonella tyhpimurium* sebanyak 2,5 ml/ekor tikus.
- d. Tiga puluh menit setelah pemberian *Salmonella tyhpimurium*, masing-masing kelompok diberi perlakuan, yaitu kelompok I diberikan akuades sebagai kontrol, kelompok II diberikan pakan susu PAP tanpa perlakuan, kelompok III diberikan *jelly drink* cincau hitam dengan dosis 60 mg/kg bb, kelompok IV diberikan *jelly drink* cincau hitam dengan dosis 80 mg/kg bb, kelompok V diberikan *jelly drink* cincau hitam dengan dosis 120 mg/kg bb, kelompok VI diberikan loperamid HCl dengan dosis 0,2 ml/kg bb sebagai pembanding dari ketiga dosis.
- e. Dilakukan pengamatan setiap 30 menit selama 8 jam meliputi saat mulai terjadinya diare, konsistensi feses (berlendir/ berair, lembek, dan normal), diameter serapan air, frekuensi diare dan lama terjadinya diare.

Cara pengamatan parameter:

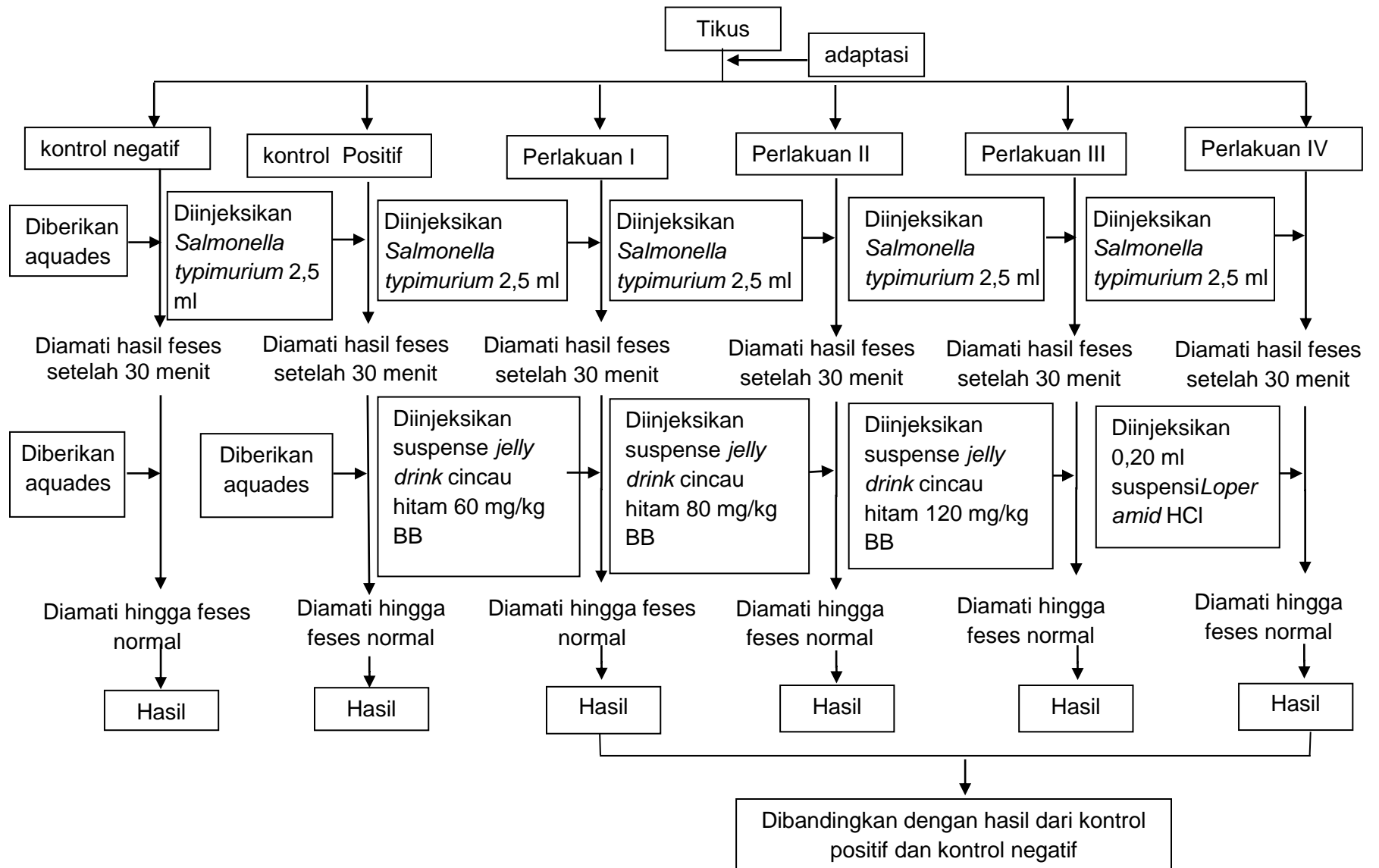
- a. Diare ditandai dengan buang air besar dimana frekuensinya meningkat dari keadaan normal dan konsistensi feses yang lebih lembek atau cair.
- b. Saat mulai terjadinya diare, caranya dengan mencatat waktu mula-mula terjadinya diare (dalam menit) setelah pemberian *Salmonella typhimurium*.
- c. Konsistensi feses, caranya dengan melihat feses mencit apakah berdarah, berlendir/ berair, lembek dan normal.
- d. Diameter serapan air, caranya dengan meletakkan feses diatas kertas saring
- e. Frekuensi diare, caranya dengan menghitung berapa kali terjadi diare selama pengamatan.
- f. Lama terjadinya diare, caranya dengan mencatat selisih waktu terakhir terjadinya diare (saat konsistensi feses kembali normal) dengan waktu mula-mula terjadinya diare (saat konsistensi berlendir atau berair) dalam menit.

3.8 Diagram Alir

3.8.1 Pembuatan Jelly Drink Cincau Hitam



3.8.2 Pengujian Jelly drink cincau hitam pada tikus wistar



3.9 Analisa Data

Data yang didapatkan akan ditampilkan sebagai rata – rata dari tiap ulangan, kemudian dianalisa dengan Analisis Ragam (ANOVA) dan apabila menunjukkan perbedaan dilanjutkan dengan Uji Beda Nyata (BNT) dan *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) menggunakan selang kepercayaan 5%. Semua analisa data dilakukan dengan menggunakan program Microsoft Excel dan program SPSS 17.0

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Analisa Bahan Baku

Bahan baku utama pembuatan *jelly drink* yaitu daun cincau hitam (*Mesona palustris* BL.), daun pandan wangi (*pandanus amaryllifolius*) dan kayu manis terlebih dahulu dianalisa menurut parameter kimia. Data hasil analisa parameter kimia masing-masing bahan baku ditunjukkan pada **Tabel 4.1**

Tabel 4.1 Hasil Analisa Bahan Baku Awal Minuman *Jelly drink* Cincau Hitam

Sampel	Parameter		
	IC ₅₀ (ppm)	total fenol (ppm)	total flavonoid (ppm)
Daun Cincau			
Hitam	731.50±0.04	12.40±0.00	14.96±0.00
Kayu Manis	20.39±0.03	37.55±0.00	30.30±0.00
Daun Pandan	67.85±0.07	17.57±0.02	27.55±0.01

Dilihat dari tabel dapat ditunjukkan daun cincau hitam memiliki kandungan antioksidan dengan analisa IC₅₀ tertinggi yaitu 731,50 ppm dan antioksidan dengan metode IC₅₀ terendah yaitu kayu manis sebesar 20,392 ppm.

Pada hasil analisa total fenol nilai tertinggi ditunjukkan pada kayu manis yang memiliki kandungan sebesar 37,558 ppm dan total fenol terendah yaitu daun cincau hitam sebesar 12,405 ppm .

Pada analisa total flavonoid bahan baku ditunjukkan nilai tertinggi didapatkan oleh kayu manis sebesar 30,300 ppm dan nilai terendah diperoleh pada cincau hitam yaitu 14,967 ppm.

4.2 Analisa *Jelly drink*

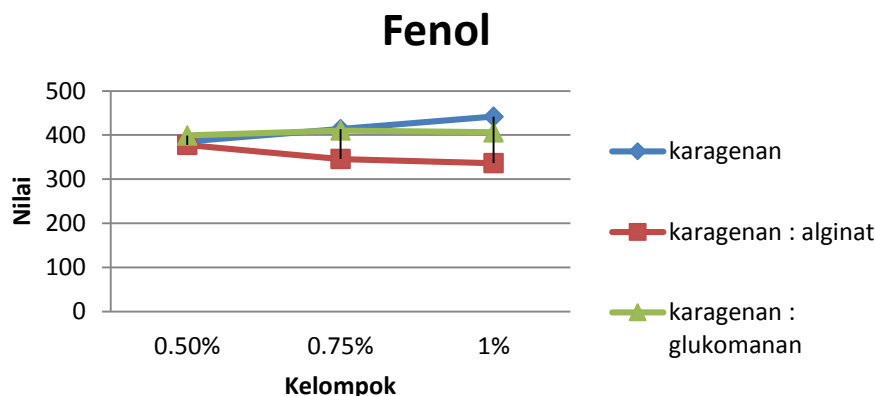
Ekstrak dari cincau hitam, daun pandan wangi, dan kayu manis dibuat *jelly drink* yang kemudian *jelly drink* tersebut dilakukan uji secara kimia dan fisik. Uji secara kimia meliputi aktivitas antioksidan, total fenol dan total flavonoid akan dilakukan pemilihan perlakuan dengan metode zeleny untuk diuji lanjut kadar tanin, IC50 dan antibakteri metode sumuran selanjutnya akan di uji antidiare secara *in vivo*.

4.2.1 Uji Kimia

4.2.1.1 Total fenol

Pengukuran total fenol dengan metode *folin-ciocalteau* di dasarkan pada reaksi oksidasi-reduksi. Reagen folin yang terdiri dari asam fosfomolibdat dan asam fosfotungstad akan tereduksi oleh senyawa polifenol menjadi malibdenum-tungsen (The Grape Seed Method Evaluation Committee, 2001). Reaksi ini membentuk kompleks warna biru. Semakin tinggi kadar fenol pada sampel, semakin banyak molekul kromagen (biru) yang terbentuk akibatnya nilai absorbansi meningkat.

Rerata nilai fenol *jelly drink* Daun cincau hitam, daun pandan wangi dan kayu manis akibat perlakuan penambahan *gelling agent* berkisar 336,377 ppm sampai 441,734 ppm. Dan rerata total fenol *jelly drink* daun cincau hitam dengan perlakuan penambahan *gelling agent* terhadap total fenol dapat ditunjukkan pada **Gambar 4.1**



Gambar 4.1 Rerata Nilai Total Fenol Minuman Jelly Drink Cincau Hitam

Gambar 4.1 menunjukkan bahwa semakin tinggi proporsi *gelling agent* yang digunakan maka kandungan total fenol semakin meningkat. Perlakuan nilai total fenol menghasilkan nilai yang berbeda. Peningkatan nilai total fenol terjadi pada formulasi karagenan dan karagenan : glukomanan. Pada perlakuan *jelly drink* karagenan menunjukkan nilai yang paling tinggi yaitu 441,734 ppm. Sedangkan total fenol terendah di dapat pada perlakuan karagenan : alginat yaitu 336,377 ppm.

Hasil analisa sidik ragam (lampiran 5) menunjukkan bahwa perlakuan *gelling agent* memberikan pengaruh nyata ($\alpha = 0,05$) terhadap total fenol

minuman *jelly drink* cincau hitam. Begitu pula dengan penambahan komposisi *gelling agent* juga memberikan pengaruh nyata terhadap nilai total fenol minuman *jelly drink* cincau hitam. Interaksi antar keduanya memberikan pengaruh nyata terhadap nilai total fenol minuman *jelly drink* cincau hitam sehingga dilanjutkan uji DMRT seperti pada **Tabel 4.2**.

Tabel 4.2 Rerata Total Fenol *Jelly Drink* Cincau Hitam

Perlakuan	Komposisi	Nilai Total Fenol
karagenan	0.5	385.10 _{cd}
	0.75	413.67 _{ef}
	1	441.73 _f
karagenan : alginat	0.5	377.45 _c
	0.75	345.82 _b
	1	336.38 _a
karagenan : glukomanan	0.5	399.13 _d
	0.75	410.36 _e
	1	406.28 _{de}

Keterangan : data merupakan 3 kali ulangan

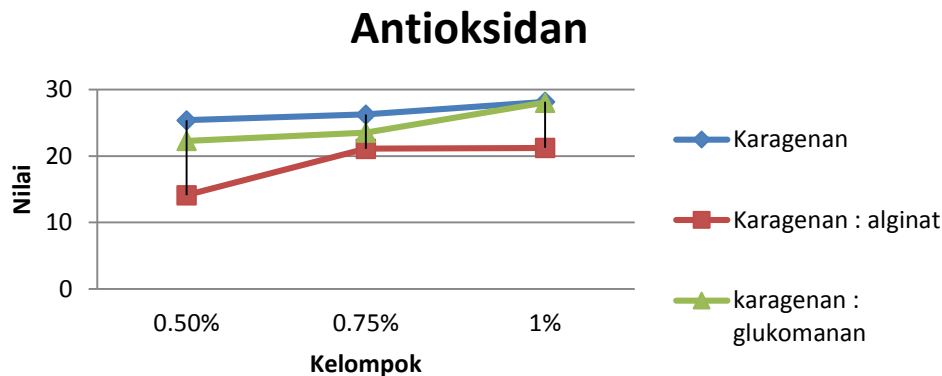
Nilai yang disertai notasi yang berbeda menunjukkan berbeda nyata pada uji DMRT ($\alpha=0,05$)

Berdasarkan **Tabel 4.2** menunjukkan bahwa semakin tinggi komposisi yang digunakan maka semakin tinggi pula total fenol yang diperoleh. Penambahan komposisi *gelling agent* sebanyak 1 % memiliki total fenol yang lebih tinggi yaitu 394,80 ppm. Diduga pemberian komposisi *gelling agent* yang tinggi, maka semakin baik dalam membentuk kestabilan gel sehingga kandungan di dalam *jelly drink* dapat terlindungi pada saat pengolahan. Menurut Kumalaningsih (2006) semakin banyak double helix yang terbentuk dari karagenan maka kemampuan untuk melindungi senyawa fenolik dari proses pemanasan semakin kuat sehingga senyawa fenolik tidak banyak yang rusak.

4.2.1.2 Aktivitas Antioksidan

Antioksidan merupakan senyawa kimia yang dapat menyumbangkan satu atau lebih elektron kepada radikal bebas, sehingga radikal bebas tersebut dapat diredam. Analisa aktivitas anti oksidan yang dilakukan menggunakan metode DPPH. Prinsip dari metode DPPH adalah elektron ganjil pada molekul DPPH akan memberikan serapan pada panjang gelombang 517 nm yang berwarna ungu. Warna ini akan berubah dari ungu menjadi kuning apabila elektron ganjil

tersebut berpasangan dengan atom hidrogen yang disumbangkan senyawa antioksidan. Perubahan warna berdasarkan reaksi keseimbangan kimia (Praksh,2001).



Gambar 4.2 Grafik Rerata Nilai Aktivitas Antioksidan Minuman *Jelly Drink* Cincau Hitam

Berdasarkan **Gambar 4.2** Menunjukkan bahwa semakin tinggi proporsi *gelling agent* yang digunakan, maka nilai presentase aktivitas antioksidan semakin tinggi juga. Rerata presentase aktivitas antioksidan tertinggi diperoleh pada proporsi karagenan sebesar 1% yaitu 28,17 % sementara untuk nilai rerata nilai antioksidan terendah diperoleh pada proporsi karagenan : alginat 0,5 % yaitu 14,12 %.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa rerata presentase aktivitas antioksidan *jelly drink* berbasis cincau hitam dengan penambahan jelly agent dan komposisi *gelling agent* berkisar 14,12 % sampai 28,17 %. Nilai aktivitas antioksidan produk akhir diperoleh hasil yang lebih rendah dibanding bahan baku. Hal ini di duga karena adanya proses pemanasan berulang, yaitu pada saat pembuatan filtrat dengan metode pemasakan ketika semua bahan di kombinasikan. Suhu berpengaruh terhadap kestabilan kandungan senyawa bioaktif yang ada di dalamnya (Hayati,2012)

Hasil anlalisa sidik ragam pada lampiran 5. Menunjukkan bahwa perlakuan proporsi *jelly agent* memberikan pengaruh nyata ($\alpha = 0,05$) terhadap nilai aktivitas antoksidan minuman *jelly drink* cincau hitam. Begitu pula dengan penambahan komposisi *gelling agent* juga memberikan pengaruh nyata terhadap nilai aktivitas antioksidan minuman *jelly drink* cincau hitam. Namun, interaksi antar keduanya tidak memberikan pengaruh nyata terhadap nilai aktivitas antioksidan minuman *jelly drink* cincau hitam

Tabel 4.3 Rerata Nilai Aktivitas Antioksidan Proporsi *Gelling Agent* Minuman *Jelly Drink* Cincau Hitam

Perlakuan	Rerata Nilai Aktivitas Antioksidan	BNT 5%
K	26.60 _b	4.1
Ka	18.82 _a	
Kg	24.62 _b	

Keterangan : data merupakan 3 ulangan

Nilai yang disertai notasi yang berbeda menunjukkan berbeda nyata pada uji BNT ($\alpha=0,05$)

Berdasarkan **Tabel 4.3** diperoleh nilai aktivitas antioksidan pada penambahan *gelling agent* yang paling tinggi adalah karagenan. Hal ini dikarenakan pada jenis *gelling agent* karagenan tidak ada pencampuran antara karagenan dengan jelly agent yang lain. Sehingga karagenan murni memiliki kestabilan pembentuk matriks gel yang lebih tinggi dan kuat sehingga antioksidan di dalamnya tidak hilang akibat pengolahan produk. Menurut Zats and Kushla (1996), bahwa faktor dominan yang menetapkan pengaruh senyawa bioaktif di dalamnya

Tabel 4.4 Rerata Nilai Aktivitas Antioksidan komposisi *Gelling Agent* Minuman *Jelly Drink* Cincau Hitam

Komposisi	Rerata Nilai Aktivitas Antioksidan	BNT 5%
0.5	20.60 _a	4.1
0.75	23.63 _{ab}	
1	25.81 _b	

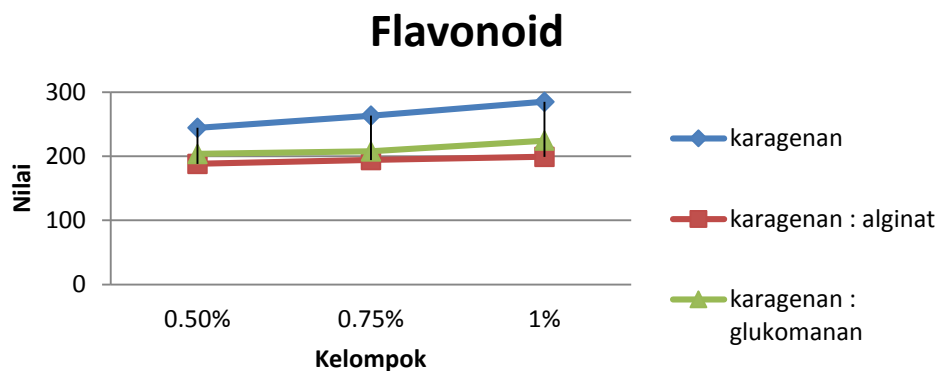
Keterangan : data merupakan 3 ulangan

Nilai yang disertai notasi yang berbeda menunjukkan berbeda nyata pada uji BNT ($\alpha=0,05$)

Berdasarkan **Tabel 4.4** diperoleh nilai aktivitas antioksidan semakin tinggi seiring dengan komposisi *gelling agent* yang semakin tinggi. Semakin tinggi komposisi *gelling agent* maka semakin baik dalam membentuk kestabilan gel karena karagenan memiliki gugus hidroksil yang lebih banyak, sehingga kemampuan untuk membentuk struktur *double helix* juga lebih tinggi dan dapat melindungi senyawa antioksidan dalam matriks tiga dimensi dari suhu pemasakan serta oksigen (Masuda *et. al.*, 2004) Dengan kenaikan *gelling agent* akan menambah dan memperkuat matriks gel. Oleh karena itu faktor dominan yang menetapkan pengaruh senyawa bioaktif didalamnya.

4.2.1.3 Analisa Total Flavonoid

Flavonoid adalah grup senyawa alami dengan ragam struktur fenolat yang dapat ditemukan pada buah, sayuran, gandum, teh dan anggur (Middleton et al.1998). Flavonoid termasuk dalam senyawa fenolik disamping fenol sederhana, fenilpropanoid, dan kuion. Prinsip dari analisa total flavonoid adalah menggunakan $AlCl_3$ (asam lewis) yang akan membentuk ikatan kompleks dengan gugus hidroksil dari senyawa flavonoid. Perubahan yang terjadi akan diidentifikasi melalui absorbansi pada daerah sinar tampak melalui spektrofotometer. Semakin banyak kandungan senyawa flavonoid dalam satu produk maka akan terlihat warna kuning yang semakin pekat apabila dilihat secara visual. Kadungan total flavonoid dinyatakan dalam RE (rutin equivalent) dan biasanya mengandung larutan standar kuarsetin sebagai standar fenolik (lampiran 7). Hasil penelitian menunjukkan bahwa rerata kadar total flavonoid jelly berbasis cincau hitam dengan penambahan komposisi jelly agent berkisar antara 188,022 - 284,911 μml CEQ/ml. hasil analisa total flavonoid jelly berbasis cincau hitam dengan penambahan komposisi jelly agent dapat dilihat pada **Gambar 4.3**



Gambar 4.3 Rerata Nilai Total Flavonoid Minuman Jelly Drink Cincau Hitam

Gambar 4.3 memperlihatkan bahwa semakin tinggi proporsi jumlah *gelling agent* yang digunakan maka kandungan total flavonoid semakin meningkat. Nilai total flavonoid tertinggi diperoleh pada perlakuan proporsi karagenan 1% sebesar 284,911 μml CEQ/ml.

Hasil analisa sidik ragam menunjukkan pada (lampiran 7) . menunjukan bahwa perlakuan *gelling agent* memberikan pengaruh nyata ($\alpha = 0,05$) terhadap total flavonoid minuman *jelly drink* cincau hitam. Begitu pula dengan

penambahan komposisi *gelling agent* juga memberikan pengaruh nyata terhadap nilai total flavonoid minuman *jelly drink* cincau hitam. Namun, interaksi antar keduanya tidak memberikan pengaruh nyata terhadap nilai total flavonoid minuman *jelly drink* cincau hitam.

Tabel 4.5 Rerata Total Flavonoid Proporsi *Gelling Agent* Minuman *Jelly Drink* Cincau Hitam

Perlakuan	Rerata Total Flavonoid	BNT 5%
k	264.13 _c	26.9
ka	193.72 _a	
kg	211.80 _b	

Keterangan :Data merupakan rerata 3 ulangan
Angka yang didampingi huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata ($\alpha=0,05$)

Berdasarkan **Tabel 4.5** menunjukkan bahwa terjadi beda nyata dengan semakin dominasi *gelling agent* maka semakin tinggi kandungan total flavonoid. Hal ini dikarenakan karagenan yang mendominasi sehingga kestabilan *gelling agent* dapat melindungi kandungan flavonoid yang ada didalam *jelly drink* cincau hitam.

Tabel 4.6 Rerata Total Flavonoid Komposisi *Gelling Agent* Minuman *Jelly Drink* Cincau Hitam

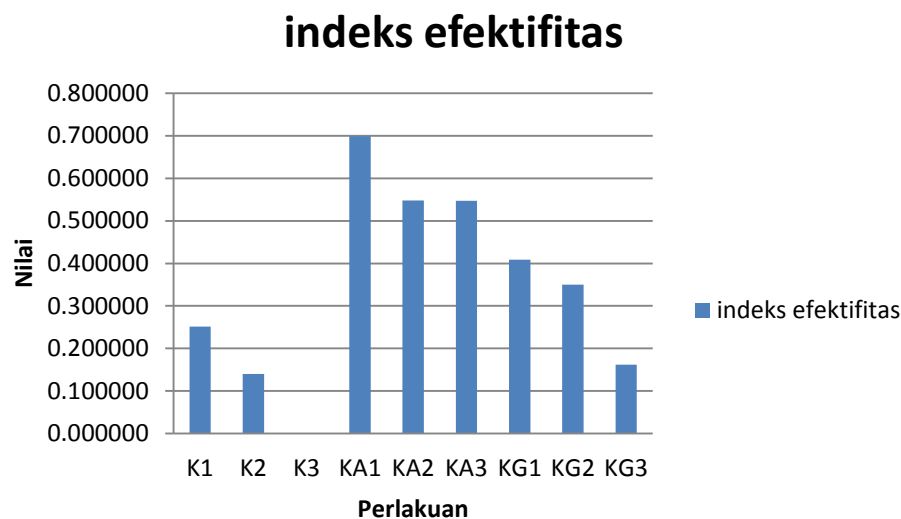
Komposisi	Rerata total flavonoid	BNT 5%
0.5	211.93 _a	26.9
0.75	221.63 _b	
1	236.09 _b	

Keterangan :Data merupakan rerata 3 ulangan
Angka yang didampingi huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata ($\alpha=0,05$)

Berdasarkan **Tabel 4.6** menunjukkan peningkatan total flavonoid pada minuman *jelly drink* cincau hitam dimana semakin banyak komposisi *gelling agent* yang digunakan maka semakin banyak kandungan flavonoid yang ada di dalam produk sehingga komposisi 1 paling tinggi rerata total flavonoid. Hal ini diduga karena dengan kenaikan *gelling agent* akan menambah dan memperkuat matriks gel. Oleh karena itu faktor dominan yang menetapkan pengaruh senyawa bioaktif didalamnya (Zats and Kushla, 1996).

4.3 Pemilihan perlakuan terbaik (metode zeleny)

Perlakuan terbaik diperoleh dengan menggunakan metode multiple attribute menurut zeleny, pada penelitian ini parameter – parameter yang diujikan pada tiap - tiap formulasi jelly drink diantaranya nilai aktivitas antioksidan, total fenol, dan total flavonoid. Nilai terendah merupakan perlakuan terbaik hasil analisis. Berikut merupakan nilai perlakuan terbaik metode multiple attribute dapat dilihat pada **Gambar 4.4**



keterangan : k1 : karagenan 0,5 %
 k2 : karagenan 0,75 %
 k3 : karagenan 1 %
 ka1 : karagenan : alginat 0,5 %
 ka2 : karagenan : alginat 0,75 %
 ka3 : karagenan : alginat 1 %
 kg1 : karagenan : glukomanan 0,5 %
 kg2 : karagenan : glukomanan 0,75 %
 kg3 : karagenan : glukomanan 1 %

Gambar 4.4 Nilai Perlakuan Terbaik Metode Multiple Atrribute menurut Zeleny

Berdasarkan hasil pengujian diperoleh perlakuan terbaik dengan proporsi karagenan 1 % hal tersebut dapat dilihat pada Tabel 4.7

Tabel 4.7 Analisa Perlakuan Terbaik Minuman Jelly Drink Cincau Hitam

Parameter	perlakuan terbaik
Antioksidan	28.17
Fenol	441.73
Flavonoid	284.91
Total Tanin	1,69
IC ₅₀	247,80

4.4 Aktivitas Antibakteri *Jelly Drink* Perlakuan Terbaik

Aktivitas antibakteri diuji dengan menggunakan metode sumuran mendapatkan hasil pada **Gambar 4.6**



Zona hambat jelly
drink cincau
hitam

Gambar 4.5 Hasil Uji Antibakteri

Dari hasil uji antibakteri maka didapatkan adanya zona bening, diameter zona bening pada bakteri *Salmonella typhimurium* sebesar 20 mm memiliki daya hambat yang kuat. Penentuan kriteria ini berdasarkan davis dan stuout dalam Fajar (2010) yang melaporkan bahwa ketentuan kekuatan daya antibakteri sebagai berikut: daerah hambatan 20 mm atau lebih termasuk sangat kuat, daerah hambatan 10-20 mm kategori kuat, daerah hambatan 5-10 mm kategori sedang dan daerah hambatan 5 mm atau kurang termasuk kategori lemah.

4.5 Uji Antidiare *Jelly Drink* Pada Tikus Yang Sudah Diinduksi *Salmonella typhimurium*

Pengujian efek antidiare dilakukan dengan menggunakan hewan coba yaitu tikus (wistar). Pengujian efek antidiare *jelly drink* cincau hitam dari perlakuan terbaik menggunakan variasi dosis yang akan diberikan kepada tikus, dosis yang akan diberikan adalah dosis obat loperamid 0,2 % dan dosis pada *jelly drink* adalah 60,80 dan 120 mg/200 g BB yang bertujuan untuk mengetahui efek antidiare.

Tikus dikelompokkan menjadi 5 kelompok yaitu k- (diare dengan pemberian pakan susu pap dan akuades), k+ (diare dengan pemberian pakan susu pap), p1 (diare dengan perlakuan *jelly drink* dosis 60 mg/200 g BB), p2 (diare dengan perlakuan *jelly drink* dosis 80 mg/200 g BB), p3 (diare dengan perlakuan *jelly drink* dosis 120 mg/200 g BB), p4 (diare pemberian loperamid). Masing masing kelompok terdiri dari 3 ekor yang diberikan *Salmonella*

typhimurium 2,5 ml. semua perlakuan diinduksikan bakteri kecuali k (-). Setelah pemberian *Salmonella typhimurium* diberikan dosis tiap masing – masing perlakuan.

Penentuan efek antidiare dilakukan dengan cara mengamati saat mulai terjadinya diare, konsistensi feses, berat feses, diaeter serapan air dan lama terjadinya diare. Penelitian ini menguji perlakuan k (-), perlakuan k (+), perlakuan 1, perlakuan 2, perlakuan 3, perlakuan 4, langkah yang dilakukan adalah menguji normalitas data One Way ANOVA dengan uji lanjut Duncan menggunakan aplikasi spss versi 17.0.

4.5.1 Penentuan Saat Terjadinya Diare

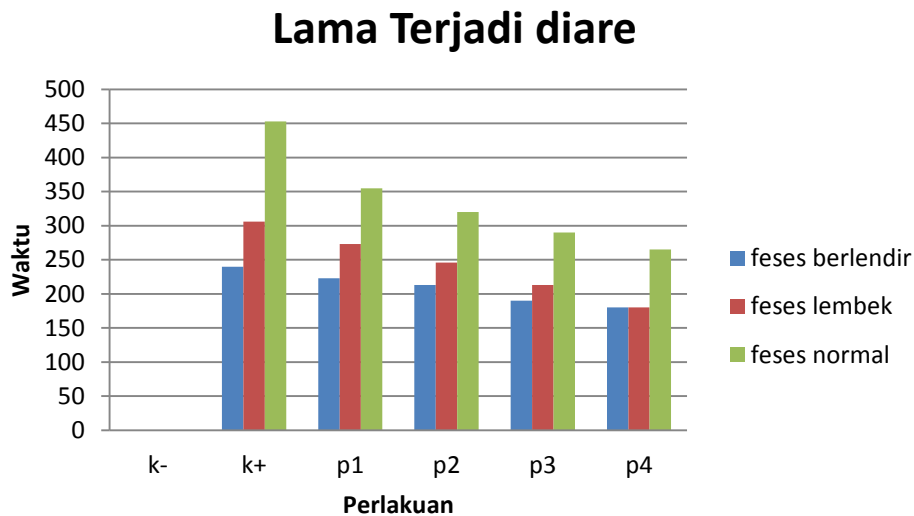
Penentuan saat terjadinya diare dengan ditandai keluarnya diare dari tikus yang konsistensi fesesnya berlendir atau berair dan lembek. Masing-masing kelompok diinduksi *Salmonella typhimurium* sebanyak 2,5 ml per ekor tikus kecuali kontrol negatif dimana sebelumnya tikus dipuasakan terlebih dahulu tidak diberikan makan dan minum selama 1 jam, tujuan dari dipuasakan adalah agar kondisi di dalam labung dan saluran pencernaan tikus dalam keadaan kosong, agar bakteri dengan mudah untuk menginfeksi.

Setelah \pm 1 jam pemberian diinduksi *Salmonella typhimurium*, diketahui bahwa setiap kelompok memiliki waktu terjadinya diare berbeda – beda yaitu sekitar 48 jam sampai 49 jam 33 menit. Ini diduga karena tiap kelompok tikus masih memiliki cadangan makanan di dalam tubuh berbeda beda dimana bakteri yang tertelan akan mengeluarkan toksin yang akan merangsang epitel usus sehingga terjadi peningkatan aktivitas enzim adeneli seklase (toksin tidak tahan panas) atau guaril siklase (toksin tahan panas). Kemudian akan terjadi hiperistaltik usus untuk mengeluarkan cairan yang berlebih dari usus halus ke usus besar. Apabila usus besar tidak mampu menahan cairan berlebih maka akan terjadi diare (Sunoto. 1991). Sehingga dapat dilihat tikus diare dengan berbagai macam yaitu cair lembek dan berwarna coklat pucat.

4.5.2 Pengamatan Saat Terjadi diare

Penentuan konsistensi feses dibagi menjadi 3 yaitu konsistensi feses berair, konsistensi feses lembek, konsistensi feses normal. Dari tiga konsistensi tersebut didapatkan parameter Lama Terjadi Diare (LTD), Diameter Serapan Air (DSA) dan Berat Feses (BF).

4.5.2.1 Pengamatan Lama Terjadi Diare Feses Pada Konsistensi Feses Berlendir, Lembek Dan Normal)



Gambar 4.6 Grafik Konsistensi Feses Lama Terjadi Diare Untuk Tiap Perlakuan

Hasil data **Gambar 4.6** menunjukkan bahwa rerata lama terjadi diare mengalami perbedaan dari setiap kelompok konsistensi berat feses berlendir, berat feses lembek dan berat feses normal. Hal ini diduga karena waktu diare dari setiap tikus berbeda beda tergantung dosis yang diberikan, karena semakin tinggi dosis yang diberikan maka semakin besar efek antidiare yang dihasilkan oleh obat tersebut (Enda^a, 2010).

Tikus yang mengalami diare ditandai dengan feses yang banyak mengandung cairan. Bakteri *Salmonella typhimurium* dapat menyebabkan diare dengan mekanisme pengeluaran toksin yang dapat merangsang aktifitas enzim adenil siklase. Enzim ini yang dapat merubah ATP menjadi cAMP. Akumulasi cAMP akan menyebabkan sekresi ion klorida, natrium dan air di dalam usus halus, hal ini yang menyebabkan hiperstaltik usus, cairan yang berlebih akan didorong menuju usus besar. Dalam kolon akan terjadi penyerapan dan apabila melebihi kapasitas penyerapan maka cairan akan keluar bersama feses dan terjadi diare (Sunoto^a. 1991). Saat konsistensi feses dari tikus mulai berair maka akan diberikan perlakuan setiap kelompoknya.

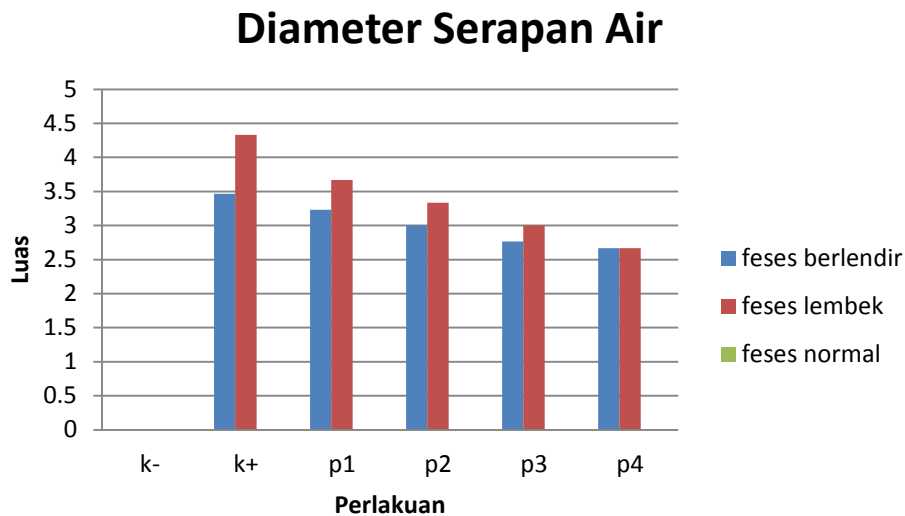
Pada perlakuan kontrol negatif tidak menunjukkan nilai dari ketiga konsistensi feses berlendir, feses lembek dan normal karena pada perlakuan kontrol negatif tidak di induksikan bakteri *Salmonella typhimurium* sehingga tikus tidak mengalami diare.

Pada perlakuan kontrol positif tanpa perlakuan yang diberikan aquades yaitu 240 menit pada konsistensi feses berlendir, 306 menit pada feses lembek dan 453 menit pada feses normal. Pada perlakuan kontrol positif paling lama, ini diduga karena karena tubuh tikus mengalami dehidrasi saat diare dan hanya diberikan aquades yang tidak dapat menciutkan selaput lendir usus yang telah terkena toksin dari *Salmonella typhimurium* sehingga tidak mampu untuk mengembalikan keadaan usus yang kehilangan banyak elektrolit.

Dari ketiga dosis jelly drink yang diberikan yang paling mendekati efek antidiare dengan konsistensi feses berlendir, feses lembek dan feses normal adalah p3 (dosis 120 mg/200 g BB) dengan nilai feses berlendir 190 menit, feses lembek 213 dan feses normal 290. Hal ini diduga karena kandungan tanin yang lebih tinggi di bandingkan dengan p1 (dosis 60 mg/200 g BB) dengan nilai feses berlendir 223 menit, feses lembek 273 menit dan feses normal 355 menit dan p2 (dosis 80 mg/200 g) dengan nilai feses berlendir 213 menit, feses lembek 246 menit dan feses normal 320 menit. Sehingga diduga senyawa tanin yang berada dalam jelly drink pada saat berada diusus akan bekerja sebagai adstringens yaitu sifat pengelat berefek spasmolitik dimana mampu menciutkan selaput lendir usus sehingga dapat menekan terjadinya diare dan meringankan keadaan diare yang non spesifik pada tikus (Hariana, 2008).

Sedangkan pada p4 (Perlakuan obat) mendapatkan nilai pada konsistensi feses berlendir 180 menit, feses lembek 180 menit dan feses normal 265 menit. Hal ini diduga karena obat loperamid bekerja sebagai penyeimbang untuk menormalkan resorpsi – sekresi dari sel – sel mukosa yaitu memulihkan sel sel yang berada dalam kondisi hipersekresi ke keadaan resorpsi normal, dapat meningkatkan waktu transit keusus halus serta waktu transit dari mulut ke sekum dan meningkatkan absorpsi air, natrium dan klorida dalam tubuh bila terjadi gangguan elektrolit (Tan dan Raharja, 2002). Sehingga pada perlakuan obat mendapatkan waktu yang paling kecil dibandingkan dengan perlakuan yang lain.

4.4.2.2 Pengamatan Diameter Serapan Air Feses Pada Konsistensi Feses Berlendir, Lembek Dan Normal)



Gambar 4.7 Grafik Konsistensi Feses Diameter Serapan Air Untuk Tiap Perlakuan

Pada **Gambar 4.7** menunjukkan bahwa terjadi perbedaan diameter serapan air dari konsistensi feses berlendir, feses lembek dan feses normal, hal ini karena semakin tinggi dosis yang diberikan maka semakin tinggi efek antidiare yang ditimbulkan. pada setiap perlakuan feses normal tidak memiliki nilai dikarenakan feses tersebut sudah mendekati kearah keras sehingga feses tidak terdapat air.

Pada perlakuan kontrol negatif tidak terdapat nilai dari setiap konsistensi feses belendir, feses lembek dan feses normal. Hal ini diduga kontrol negatif tidak diinduksikan baketri *Salmonella typhimurium* sehingga tidak mendapatkan nilai diameter serapan air.

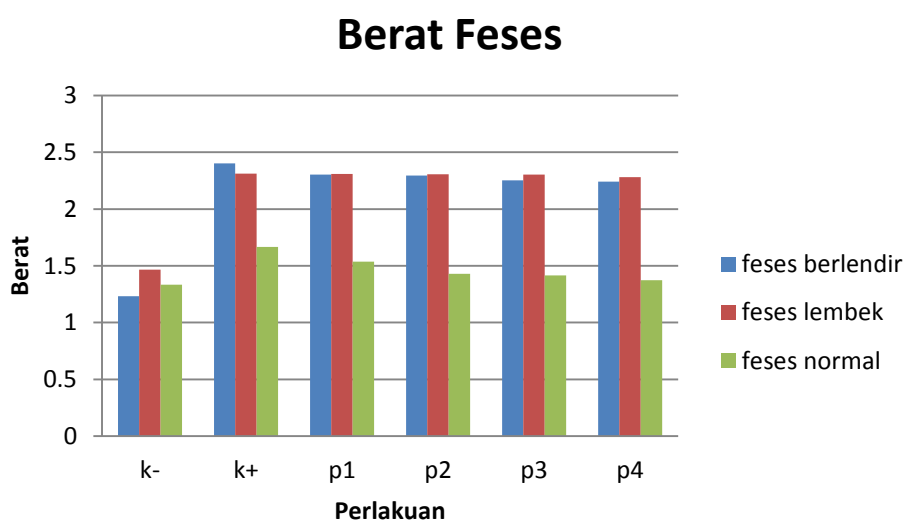
Sedangkan pada kontrol positif menunjukkan diameter serapan air paling besar yaitu pada konsistensi feses berlendir 3,46 cm, feses lembek 4,33 cm dan feses normal tidak mendapatkan nilai. Hal ini diduga karena kontrol positif hanya dilakukan pemberian aquades karena aquades bertugas untuk mengkondisikan rehidrasi dan mengembalikan keseimbangan elektrolit dalam usus karena air tidak terserap dengan baik oleh usus dimana toksin dari bakteri *salmonella typhimurium*.

Sedangkan dari ketiga perlakuan *jelly drink* yang paling besar diameter serapan air adalah p1 (dosis 60 mg/200 g BB) dengan luas serapan air konsistensi feses berair 3,23 cm, feses lembek 3,66 cm dan feses normal 0 cm.

hal ini diduga dosis yang digunakan kurang tinggi dibandingkan dengan p2 (dosis 80 mg/200 g BB) dengan konsistensi feses berair 3 cm, feses lembek 3,3 cm dan feses normal 0 cm, dan p3 (dosis 120 mg/200 g ko BB) konsistensi feses berlendir 2,7 cm, feses lembek 3 cm dan feses normal 0 cm. Menurut Enda (2010), jumlah dosis yang diberikan berbeda – beda sehingga kekuatan bahan uji dalam menekan diare semakin tinggi maka semakin besar efek antidiare yang dihasilkan oleh dosisi sediaan tersebut.

Pada p4 (perlakuan obat) diketahui diameter serapan air paling kecil yaitu konsistensi feses berlendir 2,6 cm, feses lembek 2,6 cm dan feses normal 0 cm. Hal ini di duga obat sebagai penyeimbang untuk menormalkan resopsi-sekresi dari sel mukosa untuk memulihkan sel yang berada dalam kondisi hipersekresi kekeadaan absobsi normal dapat meningkatkan waktu transit keusus halus serta waktu transit dari mulut ke sekum dan meningkatkan absropsi air, natrium dan klorida dalam tubuh bila terjadi gangguan elektrolit (Tan dan Raharja^b, 2002).

4.4.2.3 Pengamatan Berat Feses Pada Konsistensi Feses Berlendir, Lembek Dan Normal)



Gambar 4.8 Grafik Konsistensi Berat Feses Untuk Tiap Perlakuan

Pada **Gambar 4.8** menunjukkan nilai berat feses yang berbeda – beda pada konsistensi feses berair, feses lembek dan feses normal. Hal ini diduga karena dosis yang diberikan berbeda – beda semakin kecil berat feses maka efek antidiare yang dihasilkan maka semakin baik dan semakin medekati berat feses nomal maka semakin baik efek antidiare yang dihasilkan. Ditunjukkan bahwa kontrol positif (diare tanpa perlakuan) yang paling berat yaitu pada

konsistensi feses berlendir 2,403 g, feses lembek 2,32 g dan feses normal 0 cm. hal ini diduga karena karena tubuh tikus mengalami dehidrasi saat diare dan hanya diberikan aquades yang tidak dapat menciutkan selaput lendir usus yang telah terkena toksin dari *Salmonella typhimurium* (Adnyana, 2004).

Sedangkan pada perlakuan *jelly drink* memiliki waktu yang berbeda – beda yang paling mendekati feses normal adalah p3 (dosis 120 mg/200 g BB) yaitu pada konsistensi feses belendir 2,2 g, feses lembek 2,3 g dan feses normal 1,4 g. di dibandingkan dengan p1 p1 (dosis 60 mg/200 g BB) dengan nilai feses berlendir 23 g, feses lembek 2,3 g dan feses normal 1,5 g dan p2 (dosis 80 mg/200 g BB) dengan nilai feses berlendir 2,2 g, feses lembek 2,3 g dan feses normal 1,4 g. hal ini diduga karena dosis yang berbeda – beda sehingga senyawa tanin yang berada dalam jelly drink pada saat berada diusus akan bekerja sebagai adstrigens yaitu sifat pengelat berefek spasmolitik dimana mampu menciutkan selaput lendir usus sehingga dapat menekan terjadinya diare dan meringankan keadaan diare yang non spesifik pada tikus (Hariana , 2008).

Pada p4 (perlakuan obat) menunjukkan berat feses yang paling kecil yaitu pada konsistensi feses berlendir 2,2 g, feses lembek 2,2 g dan feses normal 1,3 g. hal ini diduga karena obat sebagai penyeimbang untuk menormalkan resopsi-sekresi dari sel mukosa untuk memulihkan sel yang berada dalam kondisi hipersekresi keadaan absobsi normal dapat meningkatkan waktu transit keusus halus serta waktu transit dari mulut ke sekum dan meningkatkan absropsi air, natrium dan klorida dalam tubuh bila terjadi gangguan elektrolit (Tan dan Raharja, 2002).

4.4.2.4 Pengamatan Feses Dengan Kosistensi Berlendir atau Berair

Dalam kelompok feses berlendir atau berair dilakukan pengamatan Lama Terjadi Diare (LTD), Diameter Serapan Air (DSA), dan Berat Feses (BF). Dan hasil yang diperoleh untuk mengetahui pengaruh pemberian jelly drink cincau hitam dapat dilihat pada **Tabel 4.8**.

Tabel 4.8 Hasil Penentuan Konsistensi Feses Berlendir Atau Berair Setelah Pemberian Minuman *Jelly Drink* Cincau Hitam

perlakuan	rerata lama terjadi diare (jam)	rerata diameter serapan air (cm)	rerata berat feses (gr)
k-	0 _a	0 _a	1.23 _a
k+	4.06 _b	3.46 _b	2.40 _b
p1	3.43 _b	3.23 _b	2.30 _b
p2	3.33 _b	3.00 _b	2.29 _b
p3	3.10 _b	2.76 _b	2.25 _b
p4	3.00 _b	2.66 _b	2.24 _b

Keterangan : angka yang didampingi huruf yang tidak sama menunjukkan berbeda nyata ($\alpha = 0,05$)

k - : Kontrol negatif (pemberian akuades)

k + : Kontrol positif (diare tanpa perlakuan)

p1 : Diare dengan perlakuan jelly drink dosis 60 mg/200 g

p2 : Diare dengan perlakuan jelly drink dosis 80 mg/200 g

p3 : Diare dengan perlakuan jelly drink dosis 120 mg/200 g

p4 : Diare dengan perlakuan obat loperamid

Hasil data dari **Tabel 4.8** menunjukkan bahwa kelompok kontrol negatif tidak mendapatkan nilai dari parameter lama terjadi diare dan diameter serapan air pada konsistensi feses berlendir atau berair . hal ini diduga karena kontrol negatif tidak diinduksikan bakteri *Salmonella typhimurium*. Pada parameter berat feses juga didapatkan bahwa kontrol negatif mendapatkan nilai yang kecil di bandingkan dengan kelompok perlakuan yang lain.

4.4.2.5 Pengamatan Feses Dengan Konsistensi Lembek

Parameter yang digunakan untuk uji antidiare pada konsistensi feses lembek yaitu Lama Terjadi Diare (LTD), Diameter Serapan Air (DSA) dan Berat Feses (BF). Data yang diperoleh untuk mengetahui pengaruh minuman jelly drink cincau hitam terhadap parameter dapat dilihat pada **Tabel 4.9**.

Tabel 4.9 Hasil Penentuan Konsistensi Feses Lembek Setelah Pemberian Minuman *Jelly Drink* Cincau Hitam

perlakuan	rerata lama terjadi diare (jam)	rerata diameter serapan air (cm)	rerata berat feses (gr)
k-	0 _a	0 _a	1.46 _a
k+	5.06 _e	4.33 _c	2.31 _b
p1	4.33 _{ce}	3.66 _{bc}	2.3 _b
p2	4.06 _{bce}	3.33 _{bc}	2.30 _b
p3	3.33 _{bc}	3.00 _{bc}	2.30 _b
p4	3.00 _b	2.66 _b	2.28 _b

Keterangan : angka yang didampingi huruf yang tidak sama menunjukkan berbeda nyata ($\alpha = 0,05$)

- k- : Kontrol negatif (pemberian akuades)
- k+ : Kontrol positif (diare tanpa perlakuan)
- p1 : Diare dengan perlakuan jelly drink dosis 60 mg/200 g
- p2 : Diare dengan perlakuan jelly drink dosis 80 mg/200 g
- p3 : Diare dengan perlakuan jelly drink dosis 120 mg/200 g
- p4 : Diare dengan perlakuan obat loperamid

Tabel 4.9 menunjukkan pada parameter lama terjadi diare dan diameter serapan air k (-) tidak diperoleh data karena tidak di induksikan bakteri sehingga tidak terjadi diare. Sedangkan kontrol (+) dan perlakuan 1,2,3,4 menunjukan nilai yang paling tinggi.

4.4.2.6 Pengamatan Feses Dengan konsistensi Normal

parameter yang dianalisa pada kelompok konsistensi feses normal adalah waktu terjadinya feses normal, diameter serapan air dan berat feses. Data yang diperoleh dari hasil analisa dan ragam ($\alpha = 0,05$) seperti pada **Tabel 4.10**

Tabel 4.10 Hasil Penentuan Konsistensi Feses Normal Setelah Pemberian Minuman *Jelly Drink* Cincau Hitam

perlakuan	rerata lama terjadi diare (jam)	rerata diameter serapan air (cm)	rerata berat feses (g)
k-	0 _a	0	1.33 _a
k+	7.33 _b	0	1.66 _a
p1	5.55 _{bc}	0	1.53 _a
p2	5.20 _{cd}	0	1.43 _a
p3	4.50 _d	0	1.41 _a
p4	4.25 _e	0	1.37 _a

Keterangan : angka yang didampingi huruf yang tidak sama menunjukkan berbeda nyata ($\alpha = 0,05$)

- k- : Kontrol negatif (pemberian akuades)
- k+ : Kontrol positif (diare tanpa perlakuan)
- p1 : Diare dengan perlakuan jelly drink dosis 60 mg/200 g
- p2 : Diare dengan perlakuan jelly drink dosis 80 mg/200 g
- p3 : Diare dengan perlakuan jelly drink dosis 120 mg/200 g
- p4 : Diare dengan perlakuan obat loperamid

Tabel 4.10 menunjukkan diameter serapan air tidak terdapat nilai. Diduga feses yang dihasilkan oleh tikus sudah keras dan tidak terdapat air. Pada parameter waktu terjadi feses normal kontrol positif memiliki waktu yang cukup lama yaitu 7 jam 33 menit, diduga perlakuan pemberian aquades tidak mampu memberikan efek antidiare yang signifikan. Pemberian perlakuan obat

menunjukkan waktu yang cepat yaitu 4 jam 25 menit. Sedangkan pada perlakuan *jelly drink* cincau hitam dengan dosis 120 mg/200 g menunjukkan waktu 4 jam 50 menit, diduga karena dosis yang diberikan tinggi sehingga kadar tanin dan fenol juga tinggi sehingga mampu menekan diare semakin kuat. Berbeda dengan kelompok p1 (dosis 60 mg/200 g) dan p2 (dosis 80 mg/200 g) waktu terjadinya feses normal lebih lambat. Data waktu terjadinya feses normal pada parameter feses normal

4.4.3 Rentang Waktu Diare

Rentang waktu diare ditentukan dari saat mulai terjadi diare sampai terjadinya feses normal. Ini untuk mengetahui berapa lama diare terjadi setelah penginduksian *Salmonella typhimurium* dan pemberian perlakuan dan semakin lama atau cepat efek antidiare pada tikus. Dan hasil tersebut ditunjukkan pada **Tabel 4.11**

Tabel 4.11 Total Rentang Waktu Diare

Perlakuan	total rentang waktu diare (jam)
k-	0
k+	15.26
p1	13.31
p2	12.20
p3	11.30
p4	10.25

Keterangan : k+ : Kontrol negatif (pemberian akuades)
k- : Kontrol positif (diare tanpa perlakuan)
p1 : Diare dengan perlakuan jelly drink dosis 60 mg/200 g
p2 : Diare dengan perlakuan jelly drink dosis 80 mg/200 g
p3 : Diare dengan perlakuan jelly drink dosis 120 mg/200 g
p4 : Diare dengan perlakuan obat loperamid

Tabel 4.11 menunjukkan bahwa semakin cepat total rentang waktu diare yang dihasilkan maka semakin kuat efek antidiare. Pada p4 dan p3 menunjukkan efek antidiare yang paling cepat karena dosis yang diberikan. Pada tabel untuk k (-) tidak mendapatkan nilai rentang waktu diare karena tikus tidak diberikan bakteri sehingga tidak mengalami diare. Sedangkan k (+) menunjukkan bahwa semakin lama total rentang waktu diare yang dihasilkan maka makin lama efek antidiare. Pada k (+) (diare tanpa perlakuan) menunjukkan efek antidiare yang dihasilkan dari aquades dan susu pap paling lama karena aquades hanya

memperbaiki keadaan atau disebut rehidrasi (malik dan ahmad, 2010). Dalam terjadinya diare, usus kehilangan banyak elektrolit sehingga air yang berada pada usus tidak mampu terserap oleh usus dan tidak bias digunakan untuk memadatkan feses.

Pada perlakuan obat memnunjukkan nilai yang paling kecil yaitu 10 jam 25 menit. Diduga kerana sifat *loperamid* bekerja langsung pada otot sirkuler dengan menurunkan prostaglandin, aktivitas otot sirkuler secara serentak dan mengaktivasi reseptor pada usus halus dan meningkatkan kontraksi segmen sehingga waktu lintas usus dapat diperlambat dan waktu untuk absorpsi air dapat lebih banyak (tan dan raharja, 2002).

Perlakuan *jelly drink* memiliki waktu yang berbeda beda pada perlakuan 1 *jelly drink* dengan dosis 60 mg/200 g BB mempunyai nilai total rentang waktu diare sebesar 13 jam 31 menit, berbeda dengan perlakuan 2 dengan dosis *jelly drink* 80 mg/200 g BB mendapatkan rentang waktu diare sebesar 12 jam 20 menit dan perlakuan 3 dengan dosis *jelly drink* 120 mg/200 g BB mendapatkan nilai sebesar 11 jam 30 menit. Ini diduga karena dosis yang diberikan pada perlakuan 3 lebih tinggi sehingga efek antidiare yang ditimbulkan semakin tinggi. Mekanisme senyawa fenol sebagai zat antibakteri adalah dengan cara merusak dan menembus dinding sel serta mengendapkan protein sel mikroba. Komponen fenol juga mampu mendenaturasi enzim yang bertanggungjawab terhadap germinasi spora atau berpengaruh terhadap asam amino yang terlibat dalam proses germinasi (naidu,2000).

Salmonella typhimurium merupakan bakteri uji gram negatif. Bakteri gram negatif memiliki sel dengan peptidoglikan yang sedikit dan berada diantara selaput luar dan selaput dalam setelah menerobos dinding sel senyawa fenol akan menyebabkan kebocoran isi sel dengan cara merusak ikatan – ikatan pada komponen membran sel sehingga meningkatkan permeabilitas membran. Terjadinya kerusakan pada membran sel mengakibatkan terhambatnya aktivitas dan biosintesa enzim yang diperlukan dalam reaksi metabolisme.

V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, maka dapat disimpulkan bahwa:

1. Formulasi terbaik dari metode *multiple attribute* (Zeleny, 1982) pembuatan jelly drink cincau hitam adalah dengan penambahan komposisi karagenan 1 %. Hasil terbaik jelly drink cincau hitam memiliki aktivitas antioksidan yang paling tinggi sebesar 28,17 % , total fenol sebesar 441,73 ppm , total flavonoid sebesar 284,91 ppm , nilai IC50 sebesar 247,80 ppm dan total tanin sebesar 1,69 % hasil analisa zona hambat dengan metode sumuran mendapatkan zona hambat yang baik sebesar 50-70 mm.
2. Hasil penelitian pemberian minuman jelly drink cincau hitam pada hewan coba yang diinduksikan *Salmonella typhimurium* didapatkan bahwa jika dibandingkan pada kondisi tanpa terapi, pemberian terapi antidiare mampu menurunkan rentang waktu terjadinya diare. Kondisi diare tanpa terapi mampu turun dalam waktu 15 jam 36 menit untuk pemberian obat loperamid mampu menurunkan diare pada selang waktu 10 jam 25 menit. Pemberian jelly drink cincau dosis 120 mg/200 g BB tikus menurunkan diare 11 jam 30 menit.

5.2 saran

1. Diperlukan penelitian lebih lanjut mengenai optimasi dosis jelly drink agar dapat menggantikan obat berbahan kimia menjadi obat berbahan alami.

**JELLY DRINK CINCAU HITAM (*MESONA PALUSTRIS BL*)
SEBAGAI MINUMAN FUNGSIONAL ANTIDIARE**

SKRIPSI

Oleh :

MOCH AFIF SHOLICHUDIN

NIM 105100501111001

**Sebagai syarat untuk memperoleh
gelar Sarjana Teknologi Pertanian**



**JURUSAN TEKNOLOGI HASIL PERTANIAN
FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2015**

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
LEMBAR PERSETUJUAN	ii
LEMBAR PENGESAHAN	iii
RIWAYAT HIDUP	iv
LEMBAR PERUNTUKAN	v
PERNYATAAN KEASLIAN TUGAS AKHIR	vi
RINGKASAN	vii
SUMMARY	viii
KATA PENGANTAR	ix
DAFTAR ISI	x
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
I. PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	2
1.3 Tujuan Penelitian	2
1.4 Manfaat Penelitian	2
1.5 Hipotesis	2
II. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Cincau Hitam	3
2.2 Bahan tambahan dalam <i>Jelly Drink</i> Cincau Hitam	4
2.3 Pangan Fungsional	8
2.4 Jelly Drink	9
2.5 Diare	9
2.6 <i>Salmonella typhimurium</i>	11
2.7 Kontrol Jelly Drink (<i>Loperamid Hidrokloridum</i>)	12
2.8 Pengujian Secara <i>In vivo</i>	12
III. METODE PENELITIAN	
3.1 Tempat dan Waktu Pelaksanaan	14
3.2 Bahan dan Alat Penelitian	14
3.3 Metodologi Penelitian	15
3.4 Dosis <i>Jelly Drink</i> Cincau Hitam	17
3.5 Pelaksanaan Penelitian	17
3.6 Pembuatan <i>Loperamid Hidrokloridum</i>	18
3.7 Pengujian Efek Antidiare	18
3.8 Diagram Alir	20
3.9 Analisa Data	22
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	
4.1 Analisa Bahan Baku	23
4.2 Analisa <i>Jelly Drink</i>	23
4.3 Pemilihan Perlakuan terbaik (Metode Zeleny)	30
4.4 Aktivitas Antibakteri Jelly Drink Perlakuan Terbaik	31
4.5 Uji Antidiare <i>Jelly Drink</i> Cincau Hitam Pada Tikus Yang Sudah Diinduksi <i>Salmonella typhimurium</i>	31

V. KESIMPULAN DAN SARAN	
5.1 Kesimpulan	42
5.2 Saran	42
DAFTAR PUSTAKA	43
LAMPIRAN	47

DAFTAR TABEL

Nomor	Teks	Halaman
2.1	Data Biologis Tikus	13
4.1	Hasil Analisa Bahan Baku Awal Minuman <i>Jelly drink</i> Cincau Hitam	23
4.2	Rerata Total Fenol <i>Jelly Drink</i> Cincau Hitam	25
4.3	Rerata Nilai Aktivitas Antioksidan Proporsi <i>Gelling Agent</i> Minuman <i>Jelly Drink</i> Cincau Hitam	27
4.4	Rerata Nilai Aktivitas Antioksidan komposisi <i>Gelling Agent</i> Minuman <i>Jelly Drink</i> Cincau Hitam	27
4.5	Rerata Total Flavonoid Proporsi <i>Gelling Agent</i> Minuman <i>Jelly Drink</i> Cincau Hitam	29
4.6	Rerata Total Flavonoid Komposisi <i>Gelling Agent</i> Minuman <i>Jelly Drink</i> Cincau Hitam	29
4.7	Analisa Perlakuan Terbaik Minuman <i>Jelly Drink</i> Cincau Hitam	30
4.8	Hasil Penentuan Konsistensi Feses Berlendir Atau Berair Setelah Pemberian Minuman <i>Jelly Drink</i> Cincau Hitam	38
4.9	Hasil Penentuan Konsistensi Feses Lembek Setelah Pemberian Minuman <i>Jelly Drink</i> Cincau Hitam	38
4.10	hasil Penentuan Konsistensi Feses Normal Setelah Pemberian Minuman <i>Jelly Drink</i> Cincau Hitam	39
4.11	Total Rentang waktu Diare	40

DAFTAR GAMBAR

Nomor	Teks	Halaman
2.1	Daun Cincau Hitam.....	3
2.2	Daun Pandan Wangi.....	4
2.3	Kayu Manis.....	6
4.1	Grafik Rerata Nilai Total Fenol Minuman <i>Jelly Drink</i> Cincau Hitam	24
4.2	Grafik Rerata Nilai Aktivitas Antioksidan Minuman Jelly Drink Cincau Hitam	26
4.3	Grafik Rerata Nilai Total Flavonoid Minuman <i>Jelly Drink</i> Cincau Hitam	28
4.4	Nilai Perlakuan Terbaik Metode Multiple Atribute Menurut Zeleny	30
4.5	Hasil Uji Antibakteri.....	31
4.6	Grafik Konsistensi Feses Lama Terjadi Diare Untuk Tiap Perlakuan	33
4.7	Grafik Konsistensi Feses Diameter Serapan Air Untuk Tiap Perlakuan	35
4.8	Grafik Konsistensi Berat Feses Untuk Tiap Perlakuan	36

DAFTAR LAMPIRAN

Nomor	Teks	Halaman
1	Analisa Total Fenol	48
2	Analisa Antioksidan Metode DPPH	48
3	Prosedur Analisa Flafonoid	49
4	Prosedur Analisa Antibakteri	50
5	Data Analisa Total Fenol	53
6	Data Analisa Nilai Aktivitas Antioksidan	56
7	Data Analisa Total Flavonoid	58
8	Analisa Data Pengamatan <i>In Vivo</i>	60
9	Laik Etik	82
10	Dokumentasi	83

DAFTAR PUSTAKA

- Adyana, I.K., Yulianah, E., Sigit, J.L., Fisher, K., dan Insanu, M. 2004. **Efek Ekstrak Daun Jambu Biji Daging Buah Putih dan Jambu Biji Daging Buah Merah Sebagai Antidiare**. Acta Pharmaceutica Indonesia. 29(1) 18 – 20.
- Anonimus, 2008. **Traning Manual on Graciliaria Culture and Seaweed Procesing in China.** **FAO Corporate Document Repository.** <http://www.fao.org/docrep/field/003/AB730E/AB730E00>. Accessed on November 27, 2007.
- Anonimus, 2009. **Clarification of the Definition of a Probiotic.** Available at; www.isapp.net. Oponed : Februari 21, 2012.
- Ardyan, T., 2007. **Cincau Hitam Untuk Pelangsing.** <http://tabloidposmo.com>. [25 mei 2009]
- Arrington, L.R. 1972. **Indtrodutory Laboratory of Animal Science.** The Interstate Printers and Publisher Inc., Danville, Illinois.
- Asmain A.B. 2010. **Extracts of The Subterranean Root From *Pandanus amaryllifolius*.** Dissertasion. UiTM. Malaysia
- Buttery. 1983. Chemistry and Industri. Dalam Lubis I. H. 2008. **Pengaruh Lama dan Suhu Pengeringan Terhadap Mutu Tepung Pandan.** Skripsi. Universitas Sumatera Utara. Medan.
- Ekaprasada M. T. 2009. Isolasi Senyawa Antioksidan Kulit Batang Kayu Manis (*Cinnamomum burmannii* Nees ex Blume). Dalam Prasetyaningrum, Utami R., dan Anandita R.B.K. 2012. **Aktivitas Antioksidan, Total Fenol, dan Antibakteri Minyak Atsiri dan Oleoresin Kayu Manis (*Cinnamomum burmannii*).** Jurnal Teknosains Pangan Vol 1 No 1: 24-31
- Enda, W.G. 2010. **Uji Efek Antidiare Ekstrak Etanol Kulit Bawang Salam (*zgium polyanthum Wight Walp*) terhadap mencit jantan.** Skripsi S1. Fakultas Farmasi- Universitas Sumatra Utara. Medan.
- Fajar, K.D., 2010. **Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Buah Mengkudu (*Morinda Citrifolia*, Linnaeus) Terhadap Bakteri Pembusuk Daging Segar.** Skripsi, Jurusan Biologi. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengatahuan Alam. Universitas Sebelas Maret. Surakarta.
- Fatihanim M.N., Suhaila M., Nor A.I., and Razali I. 2008. **Antioxidative Properties of *Pandanus amaryllifolius* Leaf Extracts in Accelerated Oxidation and Deep Frying Studies.** Food Chemistry. Vol 110 Issue 2
- Glicksman, M. 1993. **Hydrocoiloid.** Volum ke-1. CRC Press Inc. Boca Ratton. Florida.

- Gupta, Charu, Garg A.P, Uniyal R.C., and Kumari A. 2008. **Antimicrobial Activity of Some Herbal Oil Againsts Common Foodborne Pathogens**. African Journal of Microbiology Research Vol.(2) pp. 258-261,. ISSN 1996-0808.
- Hariana, A. 2008. **Tumbuhan Obat dan Khasiatnya**. Seri 3 – Cetakan 4. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Hayati, E.K., Fasyah, A.G dan Sa'adah. 2010. **Fraksinasi dan Identifikasi Senyawa Tanin Pada Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L)**. Jurnal Kimia. 4(2): 193-200
- Heyne K. 1987. **Tumbuhan Berguna Indonesia II Edisi 2**. Yayasan Sarana Wana Jaya. Jakarta. Hal. 795-800.
- Holt, J.G., Noel, R.K., Peter, H.A., James, T.S., Stanley, T.W. 1994. **Bergey's manual of Determinative Bacteriology**. Ninth edition. Williams and Wilkins. Ballimore, Maryland USA. 186,242
- Indosiar , 2007. **Dibalik Cincau Hitam yang Menyegarkan**. <http://www.indosiar.com>. [25 mei 2009
- Kumalaningsih, S. 2006. **Antioksidan Alami – Penangkal Radikal Bebas**. Cetakan I. Trubus Agrisarana. Surabaya.
- Laksanamai V. and Ilangantileke S. 1993. **Comparison of Aroma Compound (2-Acetyl-1-Pyrroline) in Leaves from Pandan (*Pandanus amaryllifolius*) and Thai Fragrant Rice (Kao Dawk Mali-105)**. Cereal Chem 70:381–384
- Masuda, Y., H. Kikuzaki, M. Hisamoto dan N. Nakatani. 2004. Antioixsidant properties of ginger related compounds from ginger. Biofactors 21:293 – 296.
- Meena V., Sree S.N., Surya P.D.V and Sumanjali A. (2012), **A Review on Pharnalological Activities and Clinical Effects Of Cinnnamon Species**, RJPBS 2(1):657-658
- Miftakhul Hudayani. 2008. **Efek antidiare ekstrak etanol rimpang kunyit (*Curcuma domestica* Val.) pada mencit jantan galur swiss webster**. <http://etd.eprints.ums.ac.id/2243/1/K100040030.pdf>. 15 Desember 2010
- Milasari Hidayati. 2010. **Uji efek antidiare ekstrak etanol 50%daun salam (*syzygium polyanthum* (wight.)walp.) terhadap mencit jantan yang diinduksioleum ricini**. <http://etd.eprints.ums.ac.id/9434/1/K100050020.pdf>. 22 November 2011
- Naidu, A.S dan Clemens, R.A. 2000. **Natural Food Anticicrobial System: Probiotics**. CRC Press. NewYork. 431 – 462.
- Nur Khasanah. 2009. **Pengaruh Pemberian Ekstrak Jintan Hitam (*Nigella Sativa*) Terhadap Respon Proliferasi Limfosit Limpa Mencit BALB/C Yang Diinfeksi *Salmonella typhimurium***. http://eprints.undip.ac.id/14236/1/Nur_Khasanah.pdf. 29 Juni 2015

- Ohtsuki, T. 1968. **Studies on Reverse Carbohydrates of Flour Amorphophallus Species, with Special Reference to Mannan**. Botanical Magazine Tokyo 81: 119-126.
- Punjabi, N.H. 2004. **Demam Tifoid dan Imunisasi Terhadap Penyakit ini**. U.S. NAMRU-2, Jakarta. [http:// www.papdi. Or.id/Imunisasi/demam typhoid dan imunisasi terh.htm](http://www.papdi.or.id/Imunisasi/demam_typhoid_dan_imunisasi_terh.htm)
- Parkash, A. 2001. **Medhalin Laboratories Analitical Progress**. Dilihat tanggal 5 Desember 2013. [http:// medlab.com/file.aspx?field=56](http://medlab.com/file.aspx?field=56).
- Reen, D.W. 1986. **Uses of Marine Algae in Biotechnoligy and Industry, Lokarya Bioteknologi Rumput Laut**. Sekretariat Dewan Riset Nasional, Jakarta.
- Rohmawati E. 1995. Skrining Kandungan Kimia Daun Pandan serta Isolasi dan Identifikasi Alkaloidnya. Dalam Rina M. dan Endang P.A. 2012. **Potensi Daun Pandan (*Pandanus amaryllifolius*) dan Mangkokan (*Notopanax scutellarium*) Sebagai Repelen Nyamuk *Aedes Albopictus***. *ASPIRATOR* 4(2), 2012:85-91
- Ruhnayat, A., 2002. **Cincau Hitam Tanaman Obat Penyembuh**. Penebar Swadaya, Jakarta
- Sardjono O, dkk.1995. Depkes RI, Pusat Penelitian dan Pengembangan Farmasi Balitbangkes, **Tinjauan Hasil Penelitian Tanaman Obat di Berbagai Institusi**. Jilid III. Cetakan Pertama.
- Setijo P., 1998. **Aneka Tanaman Bahan Cincau**. Cetakan ke 7, Yogyakarta
- Setyorini A. 2012. **Efek Antihipertensi Tablet Effervescent Herbal Cincau Hitam (*Mesona palustris* Bl.) Secara In Vivo pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)**. Skripsi. Universitas Brawijaya. Malang
- Simanjuntak, C. 1993. **Demam Typoid**. Epidemiologi dan Perkembangan Penelitian. Cermin Dunia Kedokteran. Vol. 3:52'53
- Soekarto, S,T. 1995. **Penilaian Organoleptik untuk Industri Pangan dan Hasil Pertanian**. Bhatara Karya Aksara. Jakarta
- Sriyanto. (2004). **Diare Akibat Adanya Infeksi Agensia Bakteri**. <http://www.idhki.net>. Diakses oktober 2009.
- Sunoto. 1991. **Penyakit Radang Usus : Infeksi Dalam Buku Ajar Ilmu Kesehatan Anak FKUI**. Editor A.H. Markum dkk. Hal 448-446. Jakarta. FKUI
- Supriharso H. 1991. Identifikasi Mineral Abu Qi yang Berperan dalam Pembentukan Gel Cincau Hitam dari Tanaman Cincau Hitam (*Mesona palustris* Bl.). Dalam Setyorini A. 2012. **Efek Antihipertensi Tablet Effervescent Herbal Cincau Hitam (*Mesona palustris* Bl.) Secara In Vivo pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)**. Skripsi. Universitas Brawijaya. Malang

- Syaefullah, M. 1990. **Studi Karakteristik Glukomannan dari Sumber Indegeneous Amorphophallus Onchopillus dengan Variasi Proses Pengerinagn dan Dosis Perendaman**. Thesis Fakultas Pasca Sarjana
- Tan, T. h., Rahardja, K. 2002. **Obat-Obat Penting: Khaisat, penggunaan dan Efek-Efek Sampingnya**. Edisi kelima. Cet. 2. Jakarta: Penerbit PT. Elex Media KOMpotindo Gramedia. Hal. 270-271;274278-279;287.
- Thong, KL., Alfwegg, M., P-g, T. 2000. **Comparative Analysis of Salmonella typhi by rRNA Gene Restriction and Phage Typhing**. Pakistan Journal of Biological Sciences. 3 (5): 738-739\
- Triyani, I. 2006. **Jelly Drink**. Volume 1 dan 2. Jakarta : UI Press
- Virgayanti, Putu. 2005. **Efek Dekok Daun Beluntas Sebagai Antimikroba Terhadap Salmonella typhi Secara In vitro**. Skripsi S1. Fakultas Kedokteran. Universitas Brawijaya. Malang
- Whistler, R. L and Miller, J. N. B. 1999. **Industrial Gums Polysaccharida and Their Berrivatives**. Second Edition Academic Press. New York.
- WHO. **Diarrhoeal disease**. 2009 (diunduh 25 Februari 2012). Tersedia dari URL: HYPERLINK <http://www.who.int/mediacentre/facsheets/fs330/en/>
- Widyaningsih. T.D. 2010. **Olahan Cincau Hitam**. Surabaya : Trubug Agrisarana
- Wolfensohn,S. and M. Lylod. 1998. **Handbook of Laboratory Animal Management and Walfare**. Blackwell Science Ltd. UK. London.
- Wulandari, Shinta. 2010. **Pengaruh Pemberian Cuka Apel dan Salak Terhadap Kadar Glukosa Darah pada Tikus Wistar Jantan yang diberi Diet Tinggi Gula**. Skripsi. Jurusan Teknologi Hasil Pertanian. Fakultas Teknologi Pertanian. Universitas Brawijaya. Malang.
- Zakaria, FR, NS Palupi, E Prangmurti. 2007. **Modul Prinsip Dasar Metode Evaluasi In Vivo; Penggunaan Hewan Percobaan**. ITP. IPB. Bogor.
- Zath,J. L., and Kushla, G. P., Gels, in Liberman, H.A., Lachman, L., and Schwatz, J. B. **Pharmaceutical Dosage From: Dysperse System Vol. 2**. 2nd Ed, p.399 – 417. New York: Marcell Dekker, Inc.